



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Analytik von Aromen typischer Wiener Einrichtungen I

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

<b>Verfasserin:</b>	Elisabeth Feuerstein
<b>Matrikel-Nummer:</b>	0307299
<b>Studienrichtung:</b>	Ernährungswissenschaften (A474)
<b>Betreuer:</b>	Univ.-Prof. Mag. Dr. Gerhard Buchbauer Department für Klinische Pharmazie und Diagnostik

Wien, im April 2009



## VORWORT

Als ich zum ersten Mal vom WWTF-Projekt „*Tast- und Duftdesign: Ressourcen für die Creative Industries in Wien*“ hörte, wurde bei mir als ausgesprochenem "Nasenmenschen" sofort ein grundsätzliches Interesse geweckt. Ein Anliegen des Duftdesigns ist es, typische Wiener Gerüche zu identifizieren. Da Univ.-Prof. Mag. Dr. Gerhard Buchbauer vom Department für Klinische Pharmazie und Diagnostik an diesem Projekt mitwirkte und gleichzeitig Diplomanden für die chemisch-analytische Bestimmung von geruchsaktiven Substanzen an solchen „wientypischen Plätzen“ suchte, nahm ich gerne die Chance wahr, bei diesem Projekt mitzuarbeiten. Nicht nur deshalb möchte ich mich an erster Stelle bei meinem Betreuer Univ.-Prof. Mag. Dr. Gerhard Buchbauer bedanken; er hat mir diese Untersuchungen ermöglicht und den Fortgang der Arbeit durch administrative Hilfestellung und sein freundliches Zuvorkommen sehr erleichtert.

Gleichzeitig bedanke ich mich bei Univ.-Prof. Dr. Ibrahim Elmadfa, der als Institutsvorstand dieses für das Studium der Ernährungswissenschaften doch eher „exotische“ Thema genehmigte.

An zweiter Stelle danke ich meiner Diplomarbeits-Partnerin Brigitte Schaupp für die harmonische Zusammenarbeit und den Teamgeist, der uns alle Mühen und Tiefpunkte gemeinsam überwinden ließ.

Ein besonderer Dank gilt René Klucky, der uns bei so manchen technischen und anderen Schwierigkeiten tatkräftig zur Seite gestanden ist. Auch Patricia Pauzenberger, die im Vorfeld der vorliegenden Untersuchungen an den selben Geräten Kaffeehaus-Luftmessungen durchgeführt hat, gab uns viele nützliche Tipps bezüglich Methodik und Auswertung.

Ein ganz großes Dankeschön geht an meine Familie und Freunde: zuerst an meine Eltern, die mich während meiner gesamten Studiendauer sehr unterstützt haben und mir beim Schreiben dieser Diplomarbeit mit konstruktiver Kritik beigestanden sind; dann an meine Großeltern, die durch ihr außergewöhnliches Interesse und Wissen über Ernährung meine Studienwahl maßgeblich beeinflusst haben; und last but not least an meinen Freund Paul für seine Geduld und mentale Unterstützung gerade an schwierigen Wendepunkten.



## INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung und Fragestellung .....	1
2	Literaturübersicht.....	3
2.1	„Manner-Schokolade“ .....	3
2.1.1	Geschichte der Manner-AG.....	3
2.1.2	Schokolade allgemein .....	4
2.1.3	Schokoladenverzehr weltweit und in Österreich.....	5
2.1.4	Ernährungsphysiologische Aspekte .....	7
2.1.4.1	Polyphenole in Kakao .....	7
2.1.4.1.1	Bioverfügbarkeit.....	9
2.1.4.1.2	Antioxidative Wirkung .....	10
2.1.4.1.3	Kardioprotektive Effekte.....	11
2.1.4.2	Andere wichtige Inhaltsstoffe in Kakao bzw. Schokolade .....	12
2.1.4.2.1	Fette.....	12
2.1.4.2.2	Mineralstoffe .....	13
2.1.4.2.3	Methylxanthine.....	14
2.1.4.2.4	Peptide.....	15
2.1.4.2.5	Andere Inhaltsstoffe .....	16
2.1.5	Aromaentwicklung während des Herstellungsprozesses.....	17
2.1.5.1	Säuren.....	18
2.1.5.2	Polyphenole .....	18
2.1.5.3	Fermentation der Kakaobohnen.....	19
2.1.5.4	Trocknung der Kakaobohnen .....	20
2.1.5.5	Röstung.....	20
2.1.5.5.1	Maillard-Reaktion .....	21
2.1.5.6	Conchieren.....	23
2.1.5.7	Unterschiede im Aroma der verschiedenen Kakaosorten .....	25
2.1.5.8	Unterschiede im Aroma verschiedener Schokoladensorten.....	26

2.2 Lebkuchen .....	27
2.2.1 Lebkuchen allgemein .....	27
2.2.2 Lebkuchendaroma .....	27
2.2.3 Typische Lebkuchengewürze .....	28
2.2.3.1 Ingwer .....	29
2.2.3.1.1 Aromastoffe des Ingwers .....	30
2.2.3.1.2 Ernährungsphysiologische Wirkungen von Ingwerbestand- teilen .....	31
2.3 Rosen – ein Duftkurs .....	33
2.3.1 Allgemeines zu den heutigen Rosen .....	33
2.3.2 Biosynthese von Duftstoffen in Blüten .....	34
2.3.2.1 Biosynthetische Stoffwechselwege .....	34
2.3.2.2 Räumliche und zeitliche Modulation der Biosynthese .....	35
2.3.3 Duftstoffe in Rosen .....	37
2.3.3.1 FPV aus dem Isoprenoid-Stoffwechsel .....	37
2.3.3.2 FPV mit aromatischem Ring .....	39
2.3.3.3 FPV aus Fettsäuren .....	39
2.3.4 Unterschiede bei den verschiedenen Rosendüften .....	40
2.3.5 Wirkung von Rosenduft und Rosenöl auf den Menschen .....	41
2.4 Aroma- und Duftstoffanalyse: SPME mit anschließender GC-MS- Auftrennung .....	42
2.4.1 Solid Phase Microextraction .....	42
2.4.1.1 Nachteile .....	44
2.4.1.2 Wichtige Variablen und Parameter bei der SPME-Methode .....	44
2.4.2 Auftrennung mittels GC-MS-Kopplung .....	45
3 Material und Methoden .....	47
3.1 Gegenstand, Ort und Dauer der Untersuchungen .....	47
3.1.1 Gerüche auf dem Betriebsgelände der Josef Manner AG & Company, 16. Bezirk Wien .....	47
3.1.2 Rosendüfte im Volksgarten, 1. Bezirk Wien .....	48
3.2 SPME-Probenahme .....	49
3.3 Entwickelte Methode für GC-MS-Auftrennung .....	50

3.4 Analytische Bedingungen .....	52
3.5 Auswertung der GC-MS-Chromatogramme.....	53
4 Ergebnisse und Diskussion .....	54
4.1 Gerüche der Manner-AG .....	55
4.1.1 Ergebnisse der sechsständigen Messung des Schokoladenaromas während des Conchierens .....	55
4.1.1.1 Diskussion der Ergebnisse der sechsständigen Messung des Schokoladenaromas .....	57
4.1.2 Ergebnisse der sechsständigen Messung des „Lebkuchenduftes“ ....	61
4.1.2.1 Diskussion der Ergebnisse aus der sechsständigen Messung des Lebkuchenaromas .....	64
4.1.3 Ergebnisse aus der sechsständigen Freiluftmessung im Manner- Innenhof.....	67
4.1.3.1 Diskussion der Ergebnisse aus der sechsständigen Messung im Manner-Innenhof .....	70
4.1.4 Vergleich der "Manner-Auswertungen" untereinander.....	71
4.2 Diskussion der Ergebnisse vom Volksgarten.....	75
4.2.1 Ergebnisse der sechsständigen Messung im Rosenbeet der modernen Rosenzüchtung <i>Friesia</i> .....	75
4.2.1.1 Diskussion der Ergebnisse der Rosenbeetmessung.....	78
4.2.2 Ergebnisse der sechsständigen Messung bei einer Parkbank in Rosenbeetnähe .....	82
4.2.2.1 Diskussion der Ergebnisse der „Parkbank-Messung“ .....	83
4.2.3 Ergebnisse der 18-stündigen „Rosenblütenblätter-Messung“ der Sorte <i>Duftwolke</i> im Vial .....	85
4.2.3.1 Diskussion der 18-stündigen „Vial-Messung“ .....	87
4.2.4 Ergebnisse der einstündigen Duftmessung vor einer <i>Duftwolke</i> - Rosenblüte .....	89
4.2.4.1 Diskussion der Messung an der Rosenblüte <i>Duftwolke</i> .....	91
5 Schlussbetrachtungen.....	92
6 Zusammenfassung.....	95
7 Summary .....	96
8 Literaturverzeichnis .....	97
9 Curriculum Vitae .....	107

## TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Flavan-3-ol-Gehalt und antioxidative Kapazität verschiedener Lebensmittel und Getränke [STEINBERG et al., 2003] .....	8
Tab. 2: Energie- und Nährstoffzusammensetzung von Kakaopulver, dunkler und Milkschokolade [STEINBERG et al., 2003].....	14
Tab. 3: Messungen bei Manner .....	47
Tab. 4: Messungen im Volksgarten .....	48
Tab. 5: Auswertung der Messung im Manner-Concheraum.....	57
Tab. 6: Auswertung der Messung im Manner-Backraum (Lebkuchen) .....	63
Tab. 7: Auswertung der Messung der Manner-Außenluft .....	69
Tab. 8: Vorkommen der identifizierten Aromastoffe an den drei Standorten.....	72
Tab. 9: Auswertung der Messung im Rosenbeet (Volksgarten).....	77
Tab. 10: Auswertung des „Parkbank-Chromatogrammes“ .....	83
Tab. 11: Auswertung des Chromatogrammes der „Vial-Messung“ .....	87
Tab. 12: Auswertung des Chromatogrammes der <i>Duftwolke</i> -Rosenblüte .....	91



**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abb. 1: „Manner“-Logo [Manner, 2008].....	4
Abb. 2: Gegenüberstellung des Konsums von Schokoladenkonfekt ausgewählter Länder im Jahr 2006 [CAOBISCO, 2006].....	6
Abb. 3: Chemische Struktur der Methylxanthine: (a) Theobromin, (b) Koffein und (c) Theophyllin [DEL ROSARIO et al., 2007]. ....	15
Abb. 4: Theoretische Wirkungen von Schokolade auf das Gehirn [BRUINSMA et al., 1999]. ....	16
Abb. 5: Kinetisches Modell mit mengenbest. Schritten (R1–R9), die die Bildung der wichtigsten Aromastoffe der Maillard-Reaktion beschreiben. Modifiziert nach [VAN BOEKEL, 2006] .....	21
Abb. 6: Gingerole [SIEDENTOPP, 2008] .....	30
Abb. 7: 2-Phenylethanol [EBI, 2009] .....	39
Abb. 8: Portable SPME-Field Sampler [SUPELCO, 1998].....	43
Abb. 10: Chromatogramm des Lebkuchenaromas.....	61
Abb. 11: Lebkuchenlaufband nach Backprozess [FEUERSTEIN, 2008].....	66
Abb. 12: Chromatogramm der Messung im Manner-Innenhof .....	67
Abb. 13: Dreiteilige Messreihe im Freien vor der Manner-Fabrik [FEUERSTEIN, 2008].....	70
Abb. 14: Chromatogramm der Messung im Rosenbeet .....	75
Abb. 15: Verbindungen aus dem ätherischen Öl und den SPME-Headspace- Proben von <i>Rosa damascena</i> aus Bulgarien und von <i>Rosa centifolia</i> aus Marokko und deren korrespondierende Aromaeindrücke [JIROVETZ et al., 2005].....	80
Abb. 16: Friesiablüte mit SPME-Sampler [FEUERSTEIN, 2008] .....	81
Abb. 17: Rosenbeet Friesia, Volks-garten [FEUERSTEIN, 2008].....	81
Abb. 18: Chromatogramm der Messung auf einer Parkbank .....	82
Abb. 19: SPME-Sampler auf Parkbank im Volksgarten [FEUERSTEIN, 2008].	84
Abb. 20: Chromatogramm zur Rosenblütenmessung im Vial .....	85
Abb. 21: Chromatogramm zur Messung an der <i>Duftwolke</i> -Blüte .....	89
Abb. 22: <i>Duftwolke</i> Rosenblüte im Volksgarten, 5/2008 [FEUERSTEIN].....	91



## 1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Im Rahmen des Wiener Wirtschafts-, Forschungs- und Technologiefonds (WWTF) wurde 2006 ein „*Fünf-Sinne-Call*“ initiiert, der neun mehrjährige Forschungsprojekte zur Sinneswahrnehmung beinhaltet [DIRTL, 2007]. Dazu zählt auch das WWTF-Projekt "*Tast- und Duftdesign: Ressourcen für die Creative Industries in Wien*" unter der Leitung von Doz. DDr. Madalina Diaconu vom Wiener Institut für Philosophie, welches im März 2007 mit einer Laufzeit von drei Jahren startete. Ein wichtiger Impuls für dieses Projekt bildet die Tatsache, dass Bilder und Klänge die heutige westliche Welt überfluten, Sinnesempfindungen wie das Riechen aber fast völlig auf der Strecke bleiben. Das Riechen wurde im Laufe der Geschichte als niederer, unästhetischer Sinn abgetan, erlebt aber heute nicht nur aus biologischer und medizinisch-hygienischer, sondern auch aus psychologischer und wirtschaftlicher Sicht sowie aus der Perspektive der Stadtplanung eine Renaissance [DIACONU, 2005].

Dem achtköpfigen interdisziplinären Forschungsteam gehört unter anderen Univ.-Prof. Mag. Dr. Gerhard Buchbauer vom Department für klinische Pharmazie und Diagnostik (Fakultät für Lebenswissenschaften der Universität Wien) an, der für die chemisch-analytische Bestimmung der vielen verschiedenen Aroma- und Duftstoffe zuständig ist. Er betreute im Rahmen dieses Projektes mehrere Diplomanden, die die unterschiedlichen Gerüche typischer Einrichtungen bzw. Plätze in Wien mit modernen Analyseverfahren untersuchten. Neben den Gerüchen, die in der vorliegenden Diplomarbeit behandelt werden, analysierten andere Studenten die Luft in verschiedenen Kaffeehäusern; aber auch Fliederduft und das Aromamuster in und rund um Bäckereien wurden miteinbezogen. Dabei wurde versucht, typische Gerüche der Stadt Wien, die v.a. bei der einheimischen Bevölkerung aber auch bei Besuchern in Erinnerung bleiben bzw. Erinnerungen hervorrufen, zu identifizieren und näher zu beleuchten.

In dieser Diplomarbeit werden die Gerüche zweier sehr unterschiedlicher „Einrichtungen“ behandelt: zum einen der Duft des beliebten Wiener Parks im ersten Bezirk – dem Volksgarten – zur Zeit der Rosenblüte im Mai, zum anderen

der Geruch des bekannten Wiener Süßwarenherstellers „Manner“ im 16. bzw. 17. Bezirk Wiens, der im Untersuchungszeitraum Schokolade und Lebkuchenkekse produzierte. Dabei beschränkt sich diese Arbeit auf die Identifizierung der spezifischen Duftstoffe, die für den wahrgenommenen Geruchseindruck verantwortlich sind. Die Probenahme erfolgte vor Ort mittels Solid-Phase-Microextraction (SPME) und die anschließende Auftrennung und Identifizierung mit GC-MS-Kopplung. Es soll ein chemisch-analytischer Einblick in die Zusammensetzung dieser typischen „Wiener Gerüche“ gegeben werden. Besonderes Augenmerk wurde auf den Vergleich der Geruchszusammensetzungen direkt am Entstehungsort – d.h. im Volksgarten bei den Rosenblüten, respektive in den Manner-Produktionsstätten – und dem Geruchsmuster, das in der näheren Umgebung von Wienern oder Besuchern noch wahrgenommen werden kann. Untersucht wird demnach, welche Aroma- bzw. Duftstoffe an diesen Plätzen präsent sind und ob sie den vermuteten Geruchsquellen auch wirklich zugeordnet werden können. Die verschiedenen Geruchscharakteristika wichtiger Schlüsselverbindungen werden anhand aktueller Literaturbeispiele diskutiert. Alle Ergebnisse dieser und vorhergehender Untersuchungen fließen in das WWTF-Projekt mit ein. Dabei wird in weiterer Folge die Grundfrage aufgeworfen: „Gibt es bestimmte Gerüche, die aus der Sinneslandschaft sozusagen ausgeschnitten und als typisch wienerisch betrachtet werden können? [DIRTL, 2007]“.

In der Literaturübersicht werden die drei unterschiedlichen Geruchsquellen – Schokolade, Lebkuchen und Rosen – in puncto Aromaentstehung und -entwicklung behandelt. Dabei soll am Beginn auch die Firma Manner als bekannte „Wiener Einrichtung“ vorgestellt werden. Darüber hinaus wird ein kurzer Überblick über aktuelle Studien ernährungsphysiologisch wichtiger Inhaltsstoffe und Wirkungen von Kakao/Schokolade und Lebkuchengewürzen – insbesondere Ingwer – gegeben. Außerdem soll die Solid-Phase-Microextraction (SPME) als bedeutende Extraktionstechnik in der modernen Headspace-Analytik von Lebensmittel- und Pflanzenaromen und deren anschließender GC-MS-Kopplung beleuchtet werden.

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 „Manner-Schokolade“

#### 2.1.1 Geschichte der Manner-AG

Die Entstehung der Firma Manner geht zurück auf das Jahr 1889, als Josef Manner ein Geschäft am Stephansplatz kaufte, wo er u.a. Schokolade anbot. Bald darauf erwarb er im 5. Bezirk Wiens ein Geschäft für Schokolade. 1890 siedelte Josef Manner nach Hernals, wo er mit der Schokoladeproduktion im Elternhaus fortsetzte. Nachdem er das Geschäft beim Stephansdom veräußert hatte, stieg Johann Riedl ins Geschäft ein. Die Nachkommen von Riedl und Manner führen bis heute erfolgreich das Unternehmen an. 1913 erfolgte die Umwandlung in eine Aktiengesellschaft. Mit dem Zerfall Österreich-Ungarns 1918 büßte die Firma 35% ihres Umsatzes ein. Durch den Anschluss Österreichs an das „Deutsche Reich“ verzeichnete Manner bis 1941 jedoch als Heereslieferant wieder leichte Gewinne. Obwohl von Bombenschäden verschont, gestaltete sich die zweite Hälfte der 40er Jahre aufgrund von Rohstoffproblemen allgemein als schwierig. Erst 1964 erreichte die Firma den Umsatz vom Jahre 1914. Nachdem der Eigentümer des Unternehmens Napoli Regendorfer & Co gestorben war, übernahm die Firma Manner 1970 dieses Unternehmen und damit seinen stärksten heimischen Konkurrenten. Nach einigen erfolglosen Projekten im Ausland, die allesamt scheiterten, konnte Manner 1995 die Lebkuchenerzeugung Walde GmbH & Co im Tiroler Vomp und die Candita GmbH & Co KG im niederösterreichischen Wolkersdorf übernehmen. 1999 erwarb die Firma schließlich von Nestlé den traditionsreichen Wiener Süßwarenproduzenten Viktor Schmidt & Söhne und somit die Markenrechte für Produkte wie die Austria Mozartkugel und den Nougatwürfel Ildefonso zurück, was in der österreichischen Presse als „nationale Großtat“ bewertet wurde [KÜHSCHHELM, 2003].

Heute stellt „Manner“ ein Unternehmen mittlerer Größe dar. An den drei Standorten – Wien im 17. Bezirk, Perg in Oberösterreich und Wolkersdorf in Niederösterreich – sind ca. 770 Mitarbeiter beschäftigt. Die fünf Marken Manner,

Casali, Napoli, Ildefonso und Victor Schmidt werden hier produziert und in mehr als 50 europäische und außereuropäische Länder exportiert. 2007 betrug der Umsatz der Josef Manner & Comp AG 151.2 Millionen Euro [MANNER, 2008].

Die Marke ist laut Untersuchungen des Marktforschungsinstitutes AC Nielsen 97 % der ÖsterreicherInnen ein Begriff. Diese Hochschätzung verdankt das Unternehmen v.a. seinem populärsten Erzeugnis, der Neapolitanerschnitte, die in der unverkennbaren rosa Zehnerpackung mit dem Stephansdom als Markenzeichen verkauft wird. Dank der Allgegenwart ihrer Produkte kann sich die Firma den selbstbewussten Werbeslogan „Manner mag man eben“ leisten [KÜHSCHLM, 2003].



Abb. 1: „Manner“-Logo [Manner, 2008]

### 2.1.2 Schokolade allgemein

Schokolade hat ihren Ursprung in Mexico, wo die Mayas, Inkas und Azteken den Kakaobaum (*Theobroma cacao*) kultivierten und die Früchte als „Geschenk der Götter“ würdigten. Schokoladeähnliche Erzeugnisse wurden als Aphrodisiakum betrachtet und waren nur bei bestimmten Feierlichkeiten oder für solche erhältlich, die Wohlstand und Macht genossen. 1520 brachten die frühen spanischen Eroberer Schokolade, gemischt mit Vanille und Zucker, nach Europa. Auch hier war ihr Konsum fast ausschließlich auf den Adel beschränkt. Vielleicht wegen der hohen Preise wurde die Schokolade als häufig konsumiertes Getränk allmählich durch Tee und Kaffee ersetzt, obwohl es letztendlich ein bevorzugtes Konfekt in Europa und etwas später in Nordamerika wurde [BRUINSMA et al., 1999]. 1737 wurde der Kakaobaum „*Theobroma cacao*“ benannt, was gleichviel bedeutet wie „Kakao, Essen der Götter“ [JALIL und ISMAIL, 2008].

Ähnlich wie dem Wein werden dem Kakao schon jahrhundertlang medizinische, in manchen Kulturen sogar magische Eigenschaften zugeschrieben. Bis ins frühe 20. Jahrhundert hinein offenbarten Manuskripte aus Europa und Neuspanien (Spanisch-Mittel- und Nordamerika) über 100 medizinische Anwendungen von Kakao/ Schokolade [DILLINGER et al., 2000].

Es gibt zwar viele verschiedene Sorten von Kakaobohnen, doch haben sich weltweit drei für die Schokoladeproduktion durchgesetzt: Criollo (bedeutet „nativ“), sie wird im Norden und Westen der Anden kultiviert, Forastero (übersetzt „fremdartig“), diese Sorte wächst v.a. im Amazonasbecken, und Trinitario (bedeutet so viel wie „vom Himmel gesendet“). Diese drei Kakaosorten unterscheiden sich in ihrem ausgeprägten Aroma und in ihrer Färbung, die sie während der Verarbeitung erhalten [BRUINSMA et al., 1999].

Zusammenfassend kann man sagen, dass Schokolade mehr als ein Getränk oder ein Konfekt ist. Sie ist mehr als die Summe ihrer interessanten sekundären Pflanzenstoffe. Schokolade ist ein Teil der Geschichte: Sie erzählt die Geschichte verschiedener Völker und Ereignisse von der Antike bis in die Gegenwart [DILLINGER et al., 2000].

### **2.1.3 Schokoladenverzehr weltweit und in Österreich**

Ogleich heute Kakao v.a. in Westafrika, Indonesien und Sri Lanka kultiviert wird, ist der Schokoladenkonsum als Konfekt eher in den entwickelten Ländern üblich; Europa und die USA sind die führenden Konsumenten [BRUINSMA et al., 1999]. Schokolade wird in tausenden verschiedenen Formen angeboten, weltweit werden jährlich über 3 Millionen Tonnen Kakaobohnen konsumiert. Jedes Land hat dabei seine eigenen Vorlieben und Verwendungen, wie z.B. die Sachertorte oder die „Mannerschnitte“ in Österreich, das Schweizer Kakaopulver oder die französischen Trüffeln. Markenartikel werden länderspezifisch an die unterschiedlichen Konsumvorlieben angepasst – die gleiche Marke schmeckt in Europa anders als z.B. in den USA [WCF, 2009].

Weltweit lag der Konsum von Schokoladenkonfekten im Jahr 2006 zwischen 0.12 Kilo pro Kopf in China und 10.05 Kilo pro Kopf in der Schweiz. In Österreich betrug der Pro-Kopf-Konsum 7.25 kg (siehe Abb. 2).

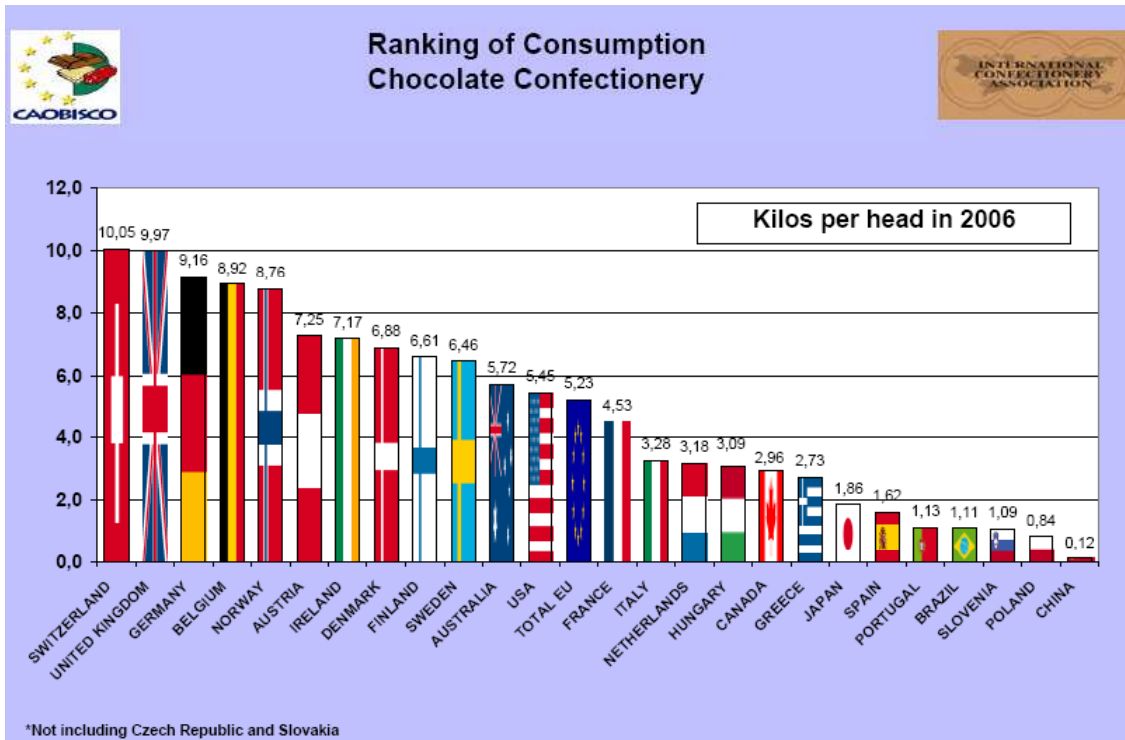


Abb. 2: Gegenüberstellung des Konsums von Schokoladenkonfekt ausgewählter Länder im Jahr 2006 [CAOBISCO, 2006].

Die Daten entstammen dem „Statistical Bulletin“, publiziert von CAOBISCO (Association of chocolate, biscuit and confectionery industries in the European Union) und ICA (International Confectionery Association) [CAOBISCO, 2006].

Im österreichischen Ernährungsbericht gehört Schokolade der Kategorie der „geduldeten Lebensmittel“ an, zu der auch Backwaren, Zucker und zuckerhaltige Produkte gezählt werden. Der Konsum dieser geduldeten Lebensmittel sollte laut Empfehlungen weniger als 10 % der täglichen Gesamtenergie ausmachen [ELMADFA et al., 2009].



## 2.1.4 Ernährungsphysiologische Aspekte

### 2.1.4.1 Polyphenole in Kakao

Die Hauptklassen der Polyphenole definieren sich über die Natur ihres Kohlenstoffgerüsts: Phenolsäuren, Flavonoide und die weniger häufigen Stilbene und Lignane. Flavonoide sind die am häufigsten vorkommenden Polyphenole in unserer Nahrung. Sie können je nach dem Oxidationsgrad des Sauerstoffs in einzelne Klassen unterteilt werden: Flavone, Flavonole, Isoflavone, Anthocyanine, Flavanole, Procyanidine und Flavanone. Im Hinblick auf Kakao sind besonders die Flavanole und Procyanidine interessant. Wichtige Flavanole sind die Catechine. Sie kommen – außer in Schokolade – auch noch in Tee und Rotwein vor. Procyanidine sind polymere Flavanole. In Pflanzen sind sie als komplexe Mischungen von Polymeren mit einem durchschnittlichen Polymerisationsgrad von 4 bis 11 enthalten [SCALBERT et al., 2000]. Procyanidine waren die ersten Polyphenole, die in *Theobroma cacao* identifiziert werden konnten [MAO et al., 2000]. Sie sind aus Flavan-3-ol-Monomeren zusammengesetzt und die jeweiligen Oligomere sind gewöhnlich durch eine 4→6 oder 4→8 Verknüpfung verbunden. Es ist bekannt, dass die primären Flavan-3-ole in Kakao (-)-Epicatechin und (+)-Catechin sind. Die Monomereinheiten der Procyanidinoligomere in Kakao bestehen hauptsächlich aus (-)-Epicatechin [HAMMERSTONE et al., 2000].

Bestimmte Kakaosorten und Schokoladen beinhalten beträchtliche Mengen an Procyanidin-Oligomeren. Sie machen zwischen 12 und 48 % des Trockengewichts von Kakaobohnen aus [STEINBERG et al., 2003; JALIL und ISMAIL, 2008]. Dadurch kann der Konsum solcher Produkte erheblich zur totalen Polyphenolaufnahme durch die Nahrung beitragen [REIN et al., 2000]. Interessant ist, dass Kakaopulver und Kakaoextrakte sogar höhere Flavonoidmengen und dadurch auch eine größere antioxidative Kapazität besitzen wie viele andere flavanolreiche Lebensmittel und Lebensmittelextrakte, wie z.B. grüner und schwarzer Tee oder Rotwein [KEEN et al., 2005, DING et al., 2006]. Es wird geschätzt, dass Schokolade die führende Quelle für die Flavonidaufnahme in westlichen Nationen (18 – 20 %) ist [DING et al., 2006].

Der Gehalt an Flavanoiden in Kakao und Schokolade kann, bedingt durch verschiedene Faktoren, merklich variieren: Wie in den meisten Pflanzen beeinflussen genetische und agronomische Faktoren den Gehalt an phytochemischen Substanzen bis zur Zeit der Ernte [KEEN et al., 2005].

Behandlungen nach der Ernte spielen ebenfalls eine kritische Rolle, weil der meiste Kakao einigen Fermentationsschritten unterliegt, was die Flavonoide im Kakao Hitze und sauren Bedingungen aussetzt. Weitere folgende Verarbeitungsschritte, wie das Rösten und eine basische Behandlung, können ebenfalls den Flavonoidgehalt reduzieren. Schlussendlich bestimmt das Rezept und die Zusammensetzung des endgültigen Lebensmittels oder des Getränkes die Menge des enthaltenen Kakaos (und Flavonoids). Abhängig von Ernte- und Verarbeitungsprozeduren können bis zu 90% der Flavonoide während der Verarbeitung verloren gehen [KEEN et al., 2005].

Flavan-3-ol content and antioxidant capacity of various foods and beverages<sup>a</sup>

	Flavanols+ procyanidins, mg	ORAC, mmol Trolox equivalents
<b>Cocoa liquor</b>		
Per 100 g	1,400.0	40.0
<b>Dark (semisweet) chocolate</b>		
Per 100 g	170.0	13.1
Per 100 kcal	85.0	2.7
<b>Milk chocolate</b>		
Per 100 g	70.0	6.7
Per 100 kcal	14.0	1.3
<b>Apples</b>		
Per 100 g	106.0	0.2
Per 100 kcal	130.0	0.3
<b>Cranberry juice cocktail</b>		
Per 100 g	12.6	0.2
Per 100 kcal	20.0	0.4
<b>Red wine</b>		
Per 100 g	22.0	0.7
Per 100 kcal	25.0	0.9
<b>Brewed black tea</b>		
Per 2 g tea bag/200 mL water <sup>b</sup>	40.0	1.6

<sup>a</sup>Antioxidant activity is reported as oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and expressed as mmol Trolox equivalents. Data are provided on a per weight and per kcal basis to facilitate comparison among foods. Data from references 10, 12, 87, 89, 90, 123.

<sup>b</sup>Data for tea are provided in an amount relevant to what might normally be consumed.

Tab. 1: Flavan-3-ol-Gehalt und antioxidative Kapazität verschiedener Lebensmittel und Getränke [STEINBERG et al., 2003]

Dunkle Schokolade wird aus einem höheren Anteil an Kakaomasse wie Milchschokolade hergestellt; deswegen enthält sie oft größere Mengen an Flavonoiden (siehe Tab. 1) [STEINBERG et al., 2003, DING et al., 2006].

Momentan gibt es verschiedene Sorten dunkler Schokolade auf dem Markt mit hohem Flavonoidgehalt. Diese Schokoladen werden mit Bedacht auf eine kontrollierte Bohnenselektion und Fermentation und durch reduzierte Hitze- und alkalische Behandlung hergestellt [JALIL und ISMAIL, 2008]. Ein Beispiel dafür ist die Mars Corporation: Sie bietet seit 2005 einen Schokoladeriegel mit hohem Flavonolgehalt, genannt *CocoaVia*, an. Er beinhaltet wesentlich mehr Flavonoiden wie ein durchschnittlicher Schokoladeriegel [LEE und BALICK, 2005].

*In-vitro*-Studien zeigten, dass der Grad der Polymerisation der Procyanidine schlussendlich deren Wirksamkeit auf eine weite Bandbreite von Eigenschaften stark beeinflussen kann [MAO et al., 2000].

Verglichen mit den Effekten von Flavonoiden *in vitro* ist jedoch die Wirkung *in vivo*, obwohl signifikant, begrenzt. Die Gründe dafür liegen beim Mangel an:

- validierten Biomarkern, v. a. im Bereich der Karzinogenese
- Langzeitstudien
- Verständnis für bzw. Rücksicht auf die Bioverfügbarkeit in den *In-vitro*-Studien, die anschließend für das Design von *In-vivo*-Experimenten verwendet werden [WILLIAMSON et MANACH, 2005].

#### 2.1.4.1.1 Bioverfügbarkeit

Biologische Effekte müssen nicht direkt den Fähigkeiten von Procyanidinen zugeschrieben werden, sondern können durch einige Metaboliten verursacht werden, die schneller durch den Darm absorbiert werden [MANACH et al., 2005]. Die Bioverfügbarkeit von Polyphenolen hängt größtenteils von der chemischen Struktur, der Glycosilierung, der Acetylierung, der Konjugation und der Polymerisation ab [JALIL und ISMAIL, 2008].

Monomere Flavonoide werden im Dünndarm resorbiert, polymere Procyanidine hingegen können durch die intestinale und Dickdarmflora degradiert und als Metabolite absorbiert oder mit dem Fäces ausgeschieden werden [JALIL und

ISMAIL, 2008]. Epicatechin (= Monomer) aus flavonoidreicher Schokolade wird daher im Menschen rasch absorbiert [STEINBERG et al., 2003].

Die Plasma-Halbwertszeit von allen Flavonoiden ist jedoch relativ kurz (< 24h), deswegen sinkt die Plasma-Epicatechin-Konzentration nach 6 bis 8 h wieder auf den Ausgangswert. Dass der Anstieg des Plasma-Epicatechinspiegels auf funktionellem Niveau wichtig ist, zeigt sich in der Dosis-Wirkungs-Kurve mit dem Anstieg der Plasma AO-Kapazität und dem Absinken von Lipidoxidationsprodukten im Plasma [WANG et al., 2000].

Außerdem kann die Lebensmittelmatrix und -textur einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit und die potentielle biologische Aktivität der Kakaoflavanole und Procyanidine haben [KEEN et al., 2005]. In verschiedenen Studien wurden höhere AO-Aktivität und Bioverfügbarkeit in dunkler Schokolade gegenüber Milkschokolade gefunden. Einige Studien beschreiben die biologische Wirkung von Flavonoiden in dunkler Schokolade als größer: Die Milch in der Milkschokolade könnte die intestinale Absorption der Flavonoide senken (=proteinbindende Fähigkeit der Flavanole und Procyanidine) [DING et al., 2006]. Jedoch scheint die Evidenz für eine solche Komplexbildung mit Polyphenolen aus heutiger Sicht fraglich, da einige Studien widersprüchliche Ergebnisse lieferten [JALIL und ISMAIL, 2008].

#### 2.1.4.1.2 Antioxidative Wirkung

Polyphenole wirken reduzierend und zusammen mit anderen Antioxidantien (AO), wie z.B. Vitamin C, Vitamin E und Carotinoiden, schützen sie die Körpergewebe vor oxidativem Stress [SCALBERT et al., 2000].

Rein et al. (2000) berichteten in ihrer klinischen Studie, in der sie procyanidinreiche Schokolade verabreichten, neben einem signifikanten Anstieg des Plasma-Epicatechins auch von einem deutlichen Anstieg der totalen AO-Kapazität des Plasmas und einem Absinken der 2-Thiobarbitursäure-aktiven Substanzen im Plasma.

Bei den Flavanolen ist die AO-Kapazität auf die Anwesenheit einer Catecholgruppe im B-Ring zurückzuführen, welche freie Radikale und redoxaktive Che-

latmetalle fangen kann. Deshalb wäre eine nachvollziehbare Hypothese, dass die AO-Aktivität mit zunehmender Oligomerkettenlänge ansteigt. Jedoch zeigt sich beim Eisenascorbat als Initiator eine umgekehrte Assoziation der Kettenlänge mit dem Schutz. Epicatechin-Monomere und –Dimere können im Gegensatz zu längererkettigen Oligomeren durch die Membran und in die Zelle diffundieren. Diese Fähigkeit ist wichtig, da beobachtet wurde, dass Kakaoprodukte und isolierte Flavanole und Procyanidine auf Enzyme und Signalkaskaden einwirken können [KEEN et al., 2005].

Procyanidine können direkte Effekte auf die intestinale Mukosa ausüben und diese gegen oxidativen Stress oder das Einwirken von Kanzerogenen schützen. Zusätzlich haben Studien ergeben, dass der Konsum von procyanidinreichen Lebensmitteln, trotz unvollständiger Aufnahme durch den Darm, neben dem Anstieg der AO-Kapazität des Plasmas und der Reduktion der Blutplättchenaggregation im Menschen, positive Effekte auf die Vaskulärfunktion haben soll. Jedoch beinhalten solche Lebensmittel 5–25 % an Monomeren anderer Polyphenolklassen, was die genaue Zuordnung der beschriebenen Effekte zu Procyanidinen erschwert [MANACH et al., 2005].

Es existieren aber auch einige Studien, die keine antioxidativen Eigenschaften von Kakao und damit verbundene Auswirkungen auf die Gesundheit nachweisen konnten. Diese Untersuchungen deuten an, dass eine Verabreichung von Kakao bei gesunden Probanden keinen Einfluss auf die AO-Eigenschaften des Plasmas ausübt. Man vermutet, dass gesunde Testpersonen schon einen optimalen diätetischen Status besitzen und eine Supplementation zu keinem aussagekräftigen Ergebnis führt [JALIL und ISMAIL, 2008].

#### 2.1.4.1.3 Kardioprotektive Effekte

In den letzten 10 Jahren wurden mindestens 28 Humanstudien durchgeführt, in denen ein Kakaoprodukt eingesetzt bzw. verabreicht wurde. Die meisten Studien stellten eine positive Verbindung zwischen Flavonoiden in Kakao und Schokolade und kardioprotektiven Effekten fest. Berücksichtigt werden muss aber dabei die Untersuchungsdauer: Viele Studien basieren nur auf Kurzzeitauswirkungen (zw. vier Tagen und 6 Wochen) [JALIL und ISMAIL, 2008].

In der Metaanalyse von Ding et al. (2006) wurden acht Kohortenstudien gefunden, die ein niedrigeres Risiko für die Mortalität bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Zusammenhang mit der totalen oder spezifischen Flavonidaufnahme setzten, nur eine Studie fand keinen Zusammenhang. Es existieren mehrere Mechanismen darüber, wie Flavonoide gegen kardiovaskuläre Erkrankungen schützen können [DING et al., 2006]: durch Effekte auf ein Absinken des Blutdrucks, durch anti-entzündliche Eigenschaften [STEINBERG et al., 2003], Hemmung der Plättchenreaktivität bzw. der Epinephrin-induzierten Blutplättchenaktivierung [REIN et al., 2000] oder durch Anstieg der HDL-Konzentration und absinkende LDL-Oxidation. Zusätzlich haben mehrere randomisierte Trials gezeigt, dass der Konsum von hoch-flavonoidhaltiger dunkler Schokolade mit einer signifikanten Verbesserung der endothelialen Funktion, markiert durch den Anstieg der durch die Brachialarterie geregelten Dilation, einhergeht [DING et al., 2006].

Da Kakao eine Mischung aus bioaktiven Verbindungen enthält, darf man die Möglichkeit nicht außer Acht lassen, dass es unter diesen Verbindungen – was deren gesundheitliche Eigenschaften betrifft – direkte oder indirekte Synergismen gibt [JALIL und ISMAIL, 2008].

#### **2.1.4.2 Andere wichtige Inhaltsstoffe in Kakao bzw. Schokolade**

In den USA gilt Schokolade, obwohl sie von vielen wegen ihres Geschmacks und den Textureigenschaften genossen wird, als ein Konfekt ohne Gesundheitswert, das nur Kalorien und Fett beinhaltet. Gewisse Schokoladen können jedoch – neben Flavonoiden – signifikante Mengen von verschiedenen essentiellen Nährstoffen beinhalten [STEINBERG et al., 2003].

##### **2.1.4.2.1 Fette**

Kakaobutter, die v.a. in dunkler Schokolade enthalten ist, beinhaltet im Durchschnitt 33 % Ölsäure, 25 % Palmitinsäure und 33 % Stearinsäure [DING et al., 2006]. Sie macht ca. 50–57 % des Trockengewichts von Kakaobohnen aus und ist verantwortlich für den Schmelz der Schokolade. Der Fettgehalt von Schokolade ist daher relativ hoch. Stearinsäure ist jedoch eine besondere gesättigte Fettsäure; sie erhöht nicht den Cholesterolspiegel im Blut so wie andere ge-

sättigte Fettsäuren. Mögliche Erklärungen dafür könnten die Kettenlänge, die ineffiziente Resorption, Stoffwechselkinetik und die „Entsättigung“ der Stearin- in eine Ölsäure durch die Leber liefern [STEINBERG et al., 2003]. Auch neuere Studien bestätigen die nicht-cholesterolämische Wirkung und deuten ebenfalls auf „nicht-atherogene“ Effekte hin [DING et al., 2006].

#### 2.1.4.2.2 Mineralstoffe

Es gibt einige Mineralstoffe, die in höheren Mengen in verarbeiteter Schokolade vorhanden sind. Die Menge an Mineralstoffen hängt vom Anteil des Kakaogehalts in der Schokolade ab; d.h., dass dunkle Schokolade verständlicherweise höhere Mengen an Mineralstoffen als Milkschokolade besitzt (siehe Tab. 2, S. 14). Da durch die Fermentation und die Hitzebehandlungen während der Verarbeitung auch die zuvor enthaltenen Phytane hydrolysiert werden, ist die Mineralstoffverfügbarkeit aus Schokolade und deren Produkten relativ gut. Der Gehalt an Magnesium, Kupfer und Kalium verdient erhöhte Aufmerksamkeit bezüglich deren Wirkungen bei der Prävention von Bluthochdruck und deren Beitrag zur Reduzierung des kardiovaskulären Risikos [STEINBERG et al., 2003].

Eine gewöhnliche Portion dunkler Schokolade (44 g) enthält im Schnitt ~ 51 mg Magnesium [STEINBERG et al., 2003]. Basierend auf den *Dietary Reference Intakes* (DRI) für Männer und Frauen im Alter von 30-71 Jahren liefert eine Portion dunkler Schokolade (44 g) 12 % des Tagesbedarfs an Magnesium [JALIL und ISMAIL, 2008]. An dieser Stelle erwähnenswert ist die Theorie von Bruinsma et al. (1999): Ausgangspunkt dabei ist, dass ein Magnesiummangel beim Symptombild des prämenstruellen Syndroms (PMS) mitwirken kann. Es ist laut Autoren möglich, dass stressbedingter Magnesiummangel zu einem Anstieg der beobachteten Schokoladenfressanfälle, die mit PMS assoziiert werden, führt [BRUINSMA et al., 1999].

Dunkle Schokolade stellt auch eine reiche Quelle an Kupfer dar. Sie enthält 310 µg pro Portion [STEINBERG et al., 2003], was über 30 % des DRIs für Kupfer ausmacht [CRN, 2009]. Sie trägt beachtlich zur Gesamtkupferaufnahme in den USA bei, gefolgt von Schokoladenmilch, Schokoladensirup, Milkschokolade und Schokoladenkuchen [JALIL und ISMAIL, 2008].

Erwähnenswert ist weiters der Gehalt an Kalium, der in einer Portion dunkler Schokolade etwa 161 mg beträgt (ähnlich wie in Milkschokolade) und vergleichbar mit der Menge in einem Apfel ist [STEINBERG et al., 2003].

Energy and nutrient composition of cocoa powder, plain chocolate, and milk chocolate<sup>a</sup>

Variable	Cocoa powder <sup>b</sup>	Milk chocolate <sup>c</sup>	Plain chocolate <sup>c</sup>
<b>Energy and nutrient (g per 100 g)</b>			
Protein	18.5	8.4	4.7
Fat	21.7	30.3	29.2
Carbohydrate	11.5	59.4	64.8
Energy (kcal)	312	529	525
<b>Element (mg per 100 g)</b>			
Sodium	950	120	11
Potassium	1,500	420	300
Calcium	130	220	38
Magnesium	520	55	100
Iron	10.5	1.6	2.4
Copper	3.9	0.3	0.7
Phosphorus	660	240	140
Chlorine	460	270	100
<b>Antioxidant (mg per 1 g)<sup>d</sup></b>			
Total phenol gallic acid equivalents	20	5.0	...

<sup>a</sup>Adapted from Pertwee (33) with permission.

<sup>b</sup>Mean of 10 samples of 2 brands.

<sup>c</sup>Mean of 10 samples of 1 brand. Plain chocolate is unsweetened or dark chocolate.

<sup>d</sup>Adapted from Waterhouse et al (67).

Tab. 2: Energie- und Nährstoffzusammensetzung von Kakaopulver, dunkler und Milkschokolade [STEINBERG et al., 2003].

#### 2.1.4.2.3 Methylxanthine

Koffein, Theobromin und Theophyllin gehören – chemisch gesehen – den Methylxanthinen an. Theobromin kommt hauptsächlich in Kakao vor, Theophylline sind nur in geringen Mengen enthalten [DEL ROSARIO et al., 2007].



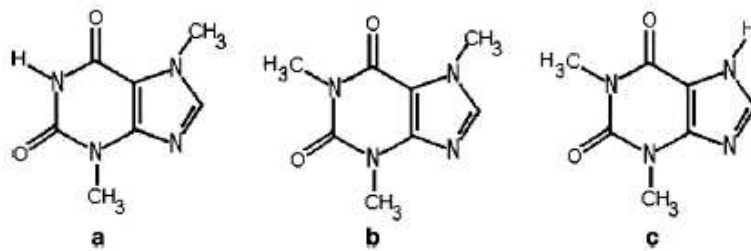


Abb. 3: Chemische Struktur der Methylxanthine: (a) Theobromin, (b) Koffein und (c) Theophyllin [DEL ROSARIO et al., 2007].

Theobromin ist eine psychoaktive Verbindung und wirkt ähnlich wie Koffein, besitzt jedoch nicht dessen diuretische Effekte. Der Koffeingehalt in Kakao ist relativ niedrig, verglichen mit Kaffee oder Tee. Dunkle Schokolade enthält – im Gegensatz zu Milch- und weißer Schokolade – viel Theobromin dank der hohen Menge an Kakaobestandteilen [JALIL und ISMAIL, 2008].

Allgemein gibt es in den drei verschiedenen Kakaosorten Criollo, Forastero und Trinitario beachtenswerte Unterschiede im Gehalt an Methylxanthinen, wobei die Sorte Criollo im Durchschnitt leicht höhere Werte besitzt [ASHIHARA et al., 2008]. Die Mengen an Methylxanthinen im Endprodukt Schokolade variieren selbst innerhalb einer Herstellermarke [BRUINSMA et al., 1999].

Zu populären Behauptungen bezüglich der Eigenschaften von Schokolade gehören die stimulierende, relaxierende, euphorisierende, aphrodisierende, tonische und antidepressive Wirkung. Die Konzentrationen an Methylxanthinen sind jedoch zu gering, um signifikante psychoaktive Wirkungen auf den Menschen auszuüben [PARKER et al., 2006]. Ob die Präsenz von Methylxanthinen gesundheitlichen Nutzen bringt oder nicht, bleibt unbeantwortet. Die Evidenz dafür oder dagegen ist oft widersprüchlich [JALIL und ISMAIL, 2008].

#### 2.1.4.2.4 Peptide

Kakaopeptide, aber auch Aminosäuren sind generell mitverantwortlich für die Aroma-Precursor-Bildung. Kakaobohnen enthalten vier Arten von Proteinen, nämlich Albumine, Globuline, Prolamin und Glutelin [JALIL und ISMAIL, 2008]. Dazu Näheres im Kapitel über das Kakaoaroma.

#### 2.1.4.2.5 Andere Inhaltsstoffe

Schokolade enthält auch Substanzen wie Anandamid und Ethanolamide, die ähnlich wie die Cannabinoide aus Cannabis Euphorie auslösen sollen. Jedoch ist beim Schokoladenkonsum jede Assoziation mit Freude wahrscheinlich eher indirekt, als dass diese Substanzen den Zusammenbruch der endogen produzierten Anandamide verhindern könnten. Selbst eine extreme Aufnahme von Tryptophan mit der Nahrung resultiert in zu geringen physiologischen Änderungen, um sich positiv auf die Stimmung auswirken zu können [PARKER et al., 2006]. Abbildung 4 ermöglicht einen groben Überblick über die theoretischen Auswirkungen von Schokolade auf das Gehirn.

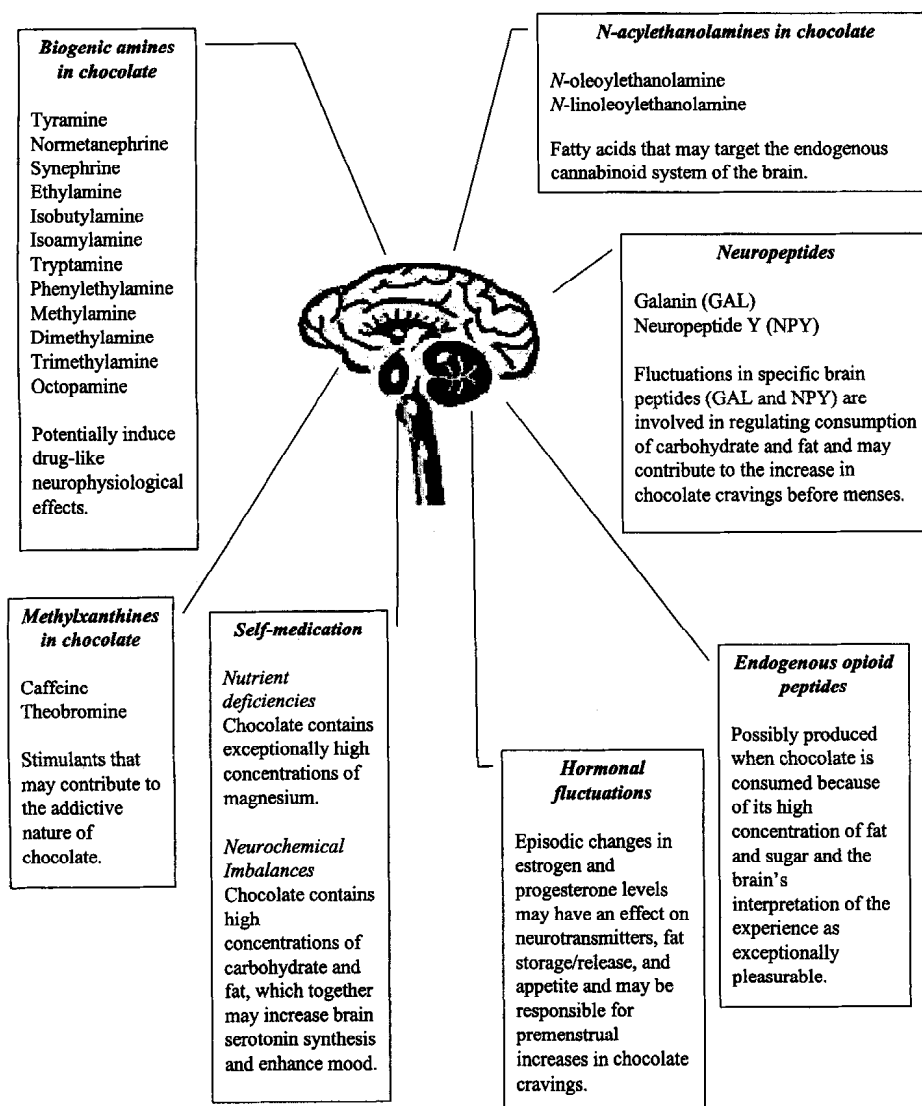


Abb. 4: Theoretische Wirkungen von Schokolade auf das Gehirn [BRUINSMA et al., 1999].

Obwohl schon viele verschiedene *Health claims* für Kakao-Polyphenole und andere Inhaltsstoffe aufgestellt wurden, bleiben viele andere kakaoeigene Substanzen unberücksichtigt. Ein Beispiel hierfür ist die Wirkung von Clovamid. Clovamid ist ein in Kakao natürlich vorkommendes Caffeoyl-Konjugat und repräsentiert eine antiradikale/antioxidative Verbindung, welche für die ernährungswissenschaftliche Forschung interessant sein könnte. Dabei müssten jedoch viele Faktoren, wie z.B. Wechselwirkungen mit anderen Kakaobestandteilen oder Verluste bei der Kakaoverarbeitung, noch näher untersucht werden [AROLIO et al., 2008].

### **2.1.5 Aromaentwicklung während des Herstellungsprozesses**

Bitterkeit, Adstringenz, „Kakaoaroma-Intensivität“, Säurehaltigkeit, Fruchtigkeit, blumige und grüne Noten stellen die sensorischen Schlüsselcharakteristika von Kakao dar [LUNA et al., 2002]. Das Aroma spielt bei Schokolade eine zentrale Rolle und wird nicht nur durch die flüchtigen Aromabestandteile beeinflusst, sondern genauso durch nicht flüchtige Inhaltsstoffe und das Verhalten der Fettphase, die für die Abgabe der flüchtigen Stoffe im Mund und die Geschmacksempfindung verantwortlich ist [AFOAKWA et al., 2009].

Doch wie entsteht dieses typische Kakaoaroma eigentlich?

Die Entwicklung des Kakaoaromas ist ein komplexer Prozess, der eine Unzahl von chemischen, biochemischen und mikrobiologischen Interaktionen beinhaltet [HOLM und ASTON, 1993]. Berichteten Oberparleiter und Ziegleder 1997 noch von ca. 400 Aromastoffen in Kakao, so sprechen Counet et al. fünf Jahre später schon von über 600 flüchtigen Verbindungen in Kakao und Schokoladenprodukten. Dabei stehen hauptsächlich Pyrazine, Aldehyde, Ester, Amine, Amide, Säuren und Kohlenwasserstoffe im Mittelpunkt [COUNET et al., 2002].

Vor den Erklärungen zur Aromaentwicklung bei der Verarbeitung von Kakao zu Schokolade bieten sich in diesem Zusammenhang die kakaoeigenen Säuren und Polyphenole zur näheren Betrachtung an.

### **2.1.5.1 Säuren**

Verbindungen wie die organischen Säuren spielen für ein korrektes Aromagleichgewicht eine wichtige Rolle und stellen nur dann ein Problem dar, wenn ihre Konzentration außerhalb eines optimalen Rahmens liegt. Essig-, Zitronen-, Milch-, Oxal-, Propion-, Bernstein- und Weinsäure kommen in den meisten Kakaosorten vor, wobei die Verhältnisse untereinander je nach Sorte variieren [HOLM und ASTON, 1993]. Bei den Untersuchungen von Holm und Aston (1993) fand man im Rahmen von Verkostungen ein intensiveres Kakaoaroma in Sorten mit erhöhtem Gehalt an Oxalsäure. Damit wird angedeutet, dass die Oxalsäure – neben Milch- und Essigsäure – mit wünschenswerten Aromaeigenschaften assoziiert werden kann. Zusätzlich zu den organischen Säuren gibt es eine Vielzahl anderer saurer Verbindungen (z.B. Amino- und Fettsäuren) in Kakao, die potentiell zu einem wahrnehmbaren Säureprofil bzw. -aroma beitragen können. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass nichtsaure Verbindungen (z.B. Salze) eine bedeutende Rolle beim Säureprofil spielen [HOLM und ASTON, 1993].

### **2.1.5.2 Polyphenole**

Unter den polyphenolischen und Flavonoidverbindungen des Kakaos sind die Tannine (hydrolysierbar und kondensiert), die Flavan-3-ol-Gruppe und die Anthocyanine für den adstringierenden Geschmack von Kakao mitverantwortlich und beeinflussen dessen Stabilität und Verdaulichkeit [SERRA BONVEHÍ und VENTURA COLL, 1997].

Polyphenole korrelieren – neben der Adstringenz – positiv mit der Bitterkeit [AROLIO et al., 2008] und der grünen Note und negativ mit dem fruchtigen Charakter von Kakao. Das bedeutet, dass die Alkaloide nicht nur für den bitteren Geschmack verantwortlich sind. Außerdem konnte folgender Trend festgestellt werden: je höher der Gehalt an Polyphenolen, desto weniger fruchtig die Kakaomasse. Vorstellbar wäre also, dass die Bitterkeit und die Adstringenz das fruchtige Aroma maskieren [LUNA et al., 2002]. Ein weiterer Grund dafür könnte die Interaktion mit Aroma-Precursor und Aromakomponenten wie z.B. den Pyrazinen sein, die während des Röstprozesses des Kakaos entstehen. Auffällig

dabei ist, dass bei einem Anstieg der Polyphenolkonzentration während der Röstung die Pyrazinbildung absinkt. Schuld daran ist die Bindung der Polyphenole an verschiedene Pyrazin-Precursor [MISNAWI et al., 2004].

### **2.1.5.3 Fermentation der Kakaobohnen**

Die Fermentation von Kakaobohnen dauert üblicherweise fünf bis sieben Tage. In diesem Zeitraum oxidieren und kondensieren die Polyphenole in den Kakaokeimblättern zu braunen, wasserunlöslichen Stoffen, die als Phlobaphene bezeichnet werden. Durch diese Vorgänge wird der stark adstringierende und bittere Geschmack der Kakaokeimblätter abgeschwächt [KLEINERT, 1997]. Gleichzeitig sind Tannine und Flavan-3-ole Gegenstand von biochemischer Oxidation, ansteigender Polymerisation und Komplexbildung mit Proteinen, was deren Löslichkeit und wiederum die Adstringenz absinken lässt [SERRA BONVEHÍ und VENTURA COLL, 1997]. Zusätzlich wird während des Fermentationsprozesses der bittere Geschmack von Kakao fundamental durch die Konzentration von Theobromin und Koffein bestimmt [DEL ROSARIO et al., 2007].

Während des Fermentationsstadiums bildet sich Essigsäure, die im Fruchtfleisch durch den Zuckerabbau von Mikroorganismen und Hefen entsteht und dann in die Kotyledonen diffundiert. Das Absinken des pH-Wertes zeigt an, dass Essigsäure mit dem Säuregeschmack assoziiert werden kann. Die Ansäuerung der Bohnen durch Essigsäure während der Fermentation führt zu verschiedenen biochemischen Veränderungen, die für die Entwicklung des Kakaoaromas notwendig sind [LUNA et al., 2002]. Diese Veränderungen beinhalten die Entstehung von Peptiden und Aminosäuren (AS) aus Speicherproteinen, wie etwa den vicilinartigen Globulinen (Reserveproteine von verschiedenen Samen), durch die Gegenwart von Kakaobohnen-Proteasen und reduzierender Zucker. Diese dienen als Precursor für die Maillard-Reaktion, welche während des Trocknungs- und Röstprozesses stattfindet [AMIN et al., 1997; LUNA et al., 2002]. Der optimale Gehalt an Aroma-Precursorstoffen wird dann erhalten, wenn die Globuline der Vicilinklasse während der Fermentation komplett durch die Endoproteasen umgewandelt werden [AMIN et al., 1997].

Im Zusammenhang mit der Fermentation werden neben der Essigsäure, Propionsäure, Isobuttersäure, Buttersäure und Isovaleriansäure noch weitere Säuren in kleinsten Mengen gebildet [KLEINERT, 1997]. Wie schon zuvor erwähnt, müssen Proteine und polyphenolische Fraktionen als Precursor vom Kakaoaroma berücksichtigt werden [AROLIO et al., 2008]. Das bedeutet, dass die Fermentation notwendig für eine Entwicklung der Aroma-Ausgangsstoffe in den Kakaobohnen ist [MISNAWI et al., 2002]. Das Kakaoaroma kann nicht durch Rösten von unfermentierten Bohnen produziert werden [AMIN et al., 1997]. In den Untersuchungen von Luna et al. (2002) zeigte sich außerdem, dass länger fermentierte Kakaobohnen ein intensiveres Kakaoaroma besitzen.

Es lässt sich also zusammenfassen, dass die Kakaofermentation nicht nur für die Bildung von wichtigen flüchtigen Fraktionen (wie Alkohole, Ester und Fettsäuren) ausschlaggebend ist, sondern auch für die Entwicklung von Kakao- bzw. Schokoladenaroma-Ausgangsstoffen [COUNET et al., 2002].

#### **2.1.5.4 Trocknung der Kakaobohnen**

Nach der Fermentation wird getrocknet. Mit fortschreitender Trocknung werden die Oxidations- und Kondensationsreaktionen beendet, wobei sich noch weitere Aromen und Aromavorstufen bilden. Nicht hydrolysiertes Protein neigt dazu, unlösliche Komplexe mit Polyphenolen zu bilden und somit die Kakaoaroma-Precursor zu reduzieren. Parallel dazu nehmen adstringierende Komponenten, wie die Epicatechine, weiter ab [KLEINERT, 1997].

#### **2.1.5.5 Röstung**

Rohkakao wird industriell mit einem Ausgangswassergehalt von rund 5 % verarbeitet, zunächst auf ca. 3 % getrocknet und dann bei einer Temperatur von etwa 130 °C geröstet [OBERPARLEITER und ZIEGLEDER, 1997]. Vor dem Röstprozess schmecken Kakaobohnen bitter, adstringierend, säuerlich, muffig, nussig und nur leicht schokoladenartig [PEREGO et al., 2004]. In modernen Verfahren der Kakaoverarbeitung werden häufig feucht-thermische Prozesse verwendet, u.a mit dem Ziel, die Farbe zu intensivieren oder den sauren Geschmack durch Entfernen überschüssiger Essigsäure zu mildern [OBERPARLEITER und ZIEGLEDER, 1997; PEREGO et al., 2004]. Der Röstvorgang

führt neben der Bildung eines spezifischen Kakaoaromas über die Maillard-Reaktion zur Karamellisierung von Zucker und zur Degradierung von Proteinen [LUNA et al., 2002].

#### 2.1.5.5.1 Maillard-Reaktion

Über die Maillard-Reaktion werden die Aroma-Precursor, die bei der Fermentation geformt wurden, während der Röstung des Kakaos in Aromastoffe umgebaut [COUNET et al., 2002]. Die Maillard-Reaktion lässt sich in drei Schritte einteilen. Als erstes kommt es zu einer Kondensation zwischen einer Aminogruppe und einem reduzierenden Zucker, was zu einem N-Glycosylamin im Falle eines Aldose-Zuckers führt, welches sich danach in eine sogenannte Amadori-Verbindung umwandelt. Der mittlere Schritt führt vom Amadori-Produkt über Zucker-Fragmentationsprodukte zum Abbau der Aminogruppe. Der Schlussschritt beinhaltet verschiedene Arten von Dehydrations-, Fragmentations-, Zyklisierungs- und Polymerisationsreaktionen, wobei wiederum Aminogruppen beteiligt sind. Die Aromastoffentstehung während der Maillard-Reaktion hängt von der Art des beteiligten Zuckers und der Aminosäuren und von der Reaktionstemperatur, -zeit, dem -pH und Wassergehalt ab [VAN BOEKEL, 2006].

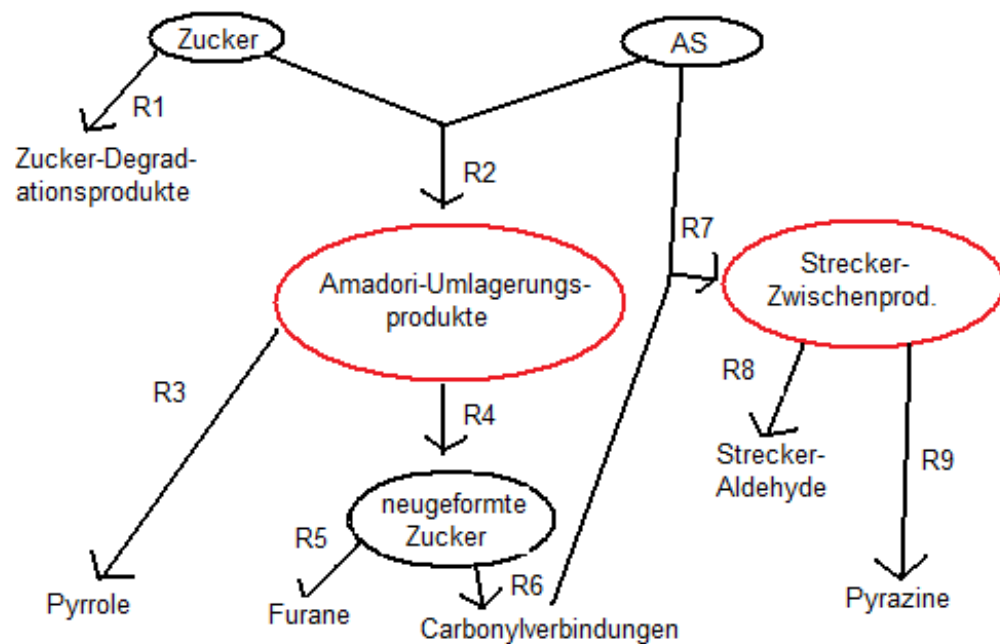


Abb. 5: Kinetisches Modell mit mengenbest. Schritten (R1–R9), die die Bildung der wichtigsten Aromastoffe der Maillard-Reaktion beschreiben. Modifiziert nach [VAN BOEKEL, 2006]

#### 2.1.5.5.1.1 Amadori-Verbindungen

Interessante Zwischenstufen der Maillard-Reaktion sind die Amadori-Verbindungen (Fructose-AS) aus D-Glucose und AS. Durch das Rösten von Fructose-Alanin (Fru-Ala), einer der in Kakao identifizierten Amadori-Verbindungen, erhält man eine Reihe von Heterozyklen, die auch zum Röstaroma von Kakao beitragen. Auch Fructose-Phenylalanin (Fru-Phe) konnte in Rohkakao nachgewiesen werden, welches als Vorstufe des Kakaoaromas in Frage kommt bzw. als Quelle für zahlreiche Phenylderivate dient. Die gerösteten Amadori-Produkte weisen leicht schokoladeartige Geruchsnoten und eine dunkle Farbe auf. Aus diesen Verbindungen entstehen auch einige Leitsubstanzen des Kakaoaromas in stärkerem Maße: Methylierte Pyrazine, 2-Acetylpyrrol, 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon, Phenylelessigsäure und Benzylverbindungen. Das erwähnte Furanon und die Phenylelessigsäure sind für den anhaltenden Geschmack von Kakao und Schokolade verantwortlich [OBERPARLEITER und ZIEGLEDER, 1997]. Es gibt zwar viele Untersuchungen an Amadori-Verbindungen aus Mischungen freier Aminosäuren und Zucker wie die von Oberparleiter und Ziegleder (1997), jedoch kaum Forschungen über Zucker-Protein- oder Zucker-Peptid-Mischungen, was dem Zustand im Lebensmittel näher kommen würde [VAN BOEKEL, 2006].

#### 2.1.5.5.1.2 Strecker-Degradation

Bei der Aromenentstehung ist v.a. die Strecker-Degradation von Bedeutung, da hier Aminosäuren durch Dicarbonyl-Verbindungen degradiert werden, die in der Maillard-Reaktion geformt wurden. Diese bewirken eine Desaminierung und Decarboxylierung der Aminosäuren. Hier muss erwähnt werden, dass Zucker-Degradierungsreaktionen in Abwesenheit von Aminogruppen (Karamellisierung) zwar zu ähnlichen Produkten führen, bei der Maillard-Reaktion die Amino-Gruppe jedoch als Katalysator wirkt. Daraus resultiert eine kürzere Reaktionsdauer und größere Mengen der sehr reaktiven Zwischenprodukte [VAN BOEKEL, 2006]. Die Endprodukte der Strecker-Degradation können in zwei Hauptklassen von riechenden Verbindungen eingeteilt werden: in die Pyrazine und die Aldehyde [COUNET et al., 2002]. Pyrazine stellen sehr wichtige Verbindungen zur Beurteilung der Qualität des Kakaoaromas dar [PEREGO et al.,



2004]. Strecker-Aldehyde sind entweder selbst als Aromastoffe wirksam oder in Form von Reaktionsprodukten, die aus ihnen entstehen [VAN BOEKEL, 2006].

#### 2.1.5.5.1.2.1 Methylpyrazine

Zu den Pyrazinen, im chemischen Sinne Stickstoff-Heterozyklen, die während des Röstprozesses entstehen, zählen Verbindungen, die sehr bedeutend für das Kakaoaroma sind. Verschiedene Methylpyrazine, darunter 2-Methylpyrazin und 2,3,5,6-Tetramethylpyrazin, sind wichtige Aromastoffe, da sie für den als süß und stark schokoladig empfundenen Geschmack von Kakao verantwortlich sind. Eine Möglichkeit der Entstehung von Pyrazinen ist z.B. durch die chemische Reaktion zwischen Aminosäureglycin und Glyoxal, entsprechend dem Strecker-Abbau [PEREGO et al., 2004]. Untersuchungen an gerösteten Kakaoproben der Forschergruppe rund um Perego (2004) zeigten, dass zwischen der Gesamtkonzentration an Pyrazinen in Kakao und der Aromapräferenz für das daraus hergestellte Produkt ein konstanter Trend besteht. Die quantitativen Unterschiede bei den identifizierten Pyrazinen in den Kakaoproben sind wahrscheinlich für das unterschiedliche Kakaoaroma ausschlaggebend [PEREGO et al., 2004]. Das Verhältnis mancher Alkylpyrazine in der flüchtigen Fraktion von Kakao und Schokolade könnte als Parameter für Qualitätsüberprüfungen dieser Produkte herangezogen werden [PINI et al., 2004].

#### 2.1.5.6 Conchieren

Allgemein wird – außer das Rösten des Kakaos – v.a. das Conchieren der Schokolade als zentraler Prozess der Aromaentwicklung dargestellt [BOLLER und BRAUN, 2001]. Dabei findet die Überführung des bitteren Kakaoaromas in das feine Schokoladenaroma statt [PEREGO et al., 2004].

Das Conchieren ist einer der wichtigsten Verarbeitungsschritte im Schokoladenherstellungsprozess. Es besteht aus einem acht- oder mehrstündigen „heißen Rühren“ in den sogenannten Conches (Tanks). Normalerweise ist dies ein Zweistufenprozess: das trockene Conchieren, welches die Feuchtigkeit absinken lässt und die Fließeigenschaften verbessert, und das gewöhnlich darauf folgende flüssige Conchieren, wenn Lecithin zugesetzt wird. Der Conchierpro-

zess bewirkt eine Farbveränderung dank Emulsifizierung und der Tanninoxidation. Zeit und Temperatur variieren je nach hergestellter Schokoladensorte [COUNET et al., 2002]. Aufgrund neuerer Untersuchungen und der Fortschritte bei der Behandlung des Rohkakaos scheint es sogar möglich, den Conchierprozess von Milchsokolade bis auf 90 min zu kürzen, ohne dass die sensorischen und physikalischen Eigenschaften darunter leiden [BOLENZ et al., 2003].

Beim Conchieren findet ein bemerkenswerter Abbau von freien AS statt, der offenbar mit aromagebundenen chemischen Reaktionen verbunden ist. Es ist nachgewiesen, dass die Scherbeanspruchung in der Conche nicht ausschließlich zur Verflüssigung der Schokolade dient, sondern dort auch Umsetzungen stattfinden, welche die Aromaentwicklung positiv beeinflussen [KLEINERT, 1997]. Weiters sind die Elimination der flüchtigen freien Fettsäuren und das Absinken der Feuchtigkeit während des Conchierens entscheidend für die Entwicklung der feinen Aromaeigenschaften und der Textur in Schokolade [AFOAKWA et al., 2009].

Da beim Essen jedoch nicht nur der analytisch detektierbare „Aromagehalt“, sondern v.a. die Verfügbarkeit der Geschmacksstoffe empfunden wird, ist auch die Struktur der Partikel und ihre Benetzung mit Kakaobutter qualitätsbestimmend. Beim Conchieren sollen unter Einwirkung der Scherkräfte die im Kakao eingeschlossenen, aromatragenden Komponenten freigesetzt und in die umgebende Phase überführt werden. Für eine gute Aromaentwicklung muss aber gleichzeitig auch der Gashaushalt, d.h. die ständige Erneuerung der inneren Oberfläche, gekoppelt mit Be- und Entlüftung, forciert werden [BOLLER und BRAUN, 2001]. Dieser Prozess verursacht also eine Verbesserung des Aromaprofils durch das Entgasen und die mechanisch-thermische Behandlung der Schokoladenmasse. Zusätzlich verleiht das Conchieren der Schokolade die gewünschte Textur, indem die Viskosität reduziert und jeder Partikel mit Kakaobutter umhüllt wird [PEREGO et al., 2004].

Untersuchungen von Afoakwa et al. (2009) haben ergeben, dass dunkle Schokolade mit feinerer Partikelgröße mehr kakao-schokolade-praline-ähnliche

und karamell-honigartige Noten besitzt als eine mit größeren Partikeln. Die Oberflächenvergrößerung durch kleinere Partikel beim Conchieren ermöglicht ein leichteres Ablösen der Aromastoffe [AFOAKWA et al., 2009].

Der allgemeine Verarbeitungsprozess reduziert signifikant die Methylpyrazinkonzentrationen, vielleicht aufgrund des Anstieges der freien Oberfläche, was die „Entgasung“ der flüchtigen Aromastoffe fördert [PEREGO et al., 2004]. Einige Strecker-Aldehyde gehen zwar während des Conchierprozesses teilweise durch Verdampfen verloren [COUNET et al., 2002], gleichzeitig verhindert jedoch das Conchieren ein weiteres Absinken der Pyrazinkonzentrationen. Dieses Phänomen könnte mit dem lokalen Temperaturanstieg innerhalb der Conchiermasse aufgrund des mechanischen Prozesses zusammenhängen. Zusätzlich wird während des feinen Mahlvorgangs vom Kakaomaterial zwischen den Walzen Sucrose partiell amorph und weist dadurch eine ansteigende Adsorptionskapazität für das Kakaoaroma in der Conche auf [PEREGO et al., 2004].

#### ***2.1.5.7 Unterschiede im Aroma der verschiedenen Kakaosorten***

Das Kakaoaroma hängt – neben der Verarbeitung nach der Ernte (Fermentation und Trocknung) und den weiteren Herstellungsschritten – von der genetischen Ausstattung des Samens ab [BONVEHÍ, 2005]. Kakaobohnen unterschiedlicher Herkunft haben verschiedene Aromaeigenschaften, wie z.B. säurehaltigen, speckigen oder rauchigen Geschmack. Die Kakaosorte spielt bei der Entwicklung des Aromaprofils eine wichtige Rolle: z.B. sind Bohnen aus Ecuador und Grenada bekannt für ihren aromatischen Charakter, diejenigen aus Ghana hingegen werden wegen ihres minder ausgebildeten Aromas eher als „Massenkakao“ bezeichnet [PEREGO et al., 2004].

#### **2.1.5.8 Unterschiede im Aroma verschiedener Schokoladensorten**

Anders als in dunkler Schokolade finden in Milkschokolade chemische Interaktionen zwischen den Milchproteinen und den Aldehydgruppen bestimmter Zucker statt. Diese Vorgänge laufen im Rahmen der Maillard-Reaktion ab. Einige der von Muresan et al. (2000) identifizierten Aromastoffe in Blockmilch (ein Zwischenprodukt bei der Milkschokoladen-Produktion) wurden auch von Schnermann und Schieberle (1997) als aromaaktive Schlüsselverbindungen in Milkschokolade durch AEDA (Aroma-Extrakt-Dilutionsanalyse) beschrieben.

Aldehyde und Ketone kommen als meist vertretene Aromakomponenten in der hitzebehandelten Blockmilch vor [MURESAN et al., 2000]. Generell werden die Strecker-Aldehyde 2-Phenylacetaldehyd und 3-Methylbutanal als wichtige Geruchsstoffe im Milkschokoladenaroma erwähnt [SCHNERMANN und SCHIEBERLE, 1997].

## 2.2 Lebkuchen

### 2.2.1 Lebkuchen allgemein

Im 13. Jahrhundert entstand vermutlich erstmals ein lebkuchenähnliches Gebäck, das seinen Ursprung aus dem Honigkuchen der Ägypter, Griechen, Römer und Germanen nahm. V.a. in christlichen Klöstern entwickelte sich eine Tradition rund um die spezielle Weihnachtsbäckerei: Dazu zählten u.a. der mit schwarzem Pfeffer gewürzte Pfefferkuchen. Auch die Verwendung von Oblaten für die Herstellung von Lebkuchen deutet auf Klöster als Ursprungsort des Lebkuchens hin. In der Stadt Nürnberg wird erstmals im Jahre 1395 ein „Lebküchener“ (Lebkuchenbäcker) urkundlich erwähnt. Auch heute gilt der „Nürnberger Lebkuchen“ als Synonym für traditionelle Weihnachtsbäckerei [RITTER, 2003].

### 2.2.2 Lebkuchenaroma

Lebkuchen unterliegen, so wie andere Getreideprodukte, einem thermischen Prozess, dem Backen. Während des Backvorgangs finden im Lebensmittel intensive Transformationen durch das Einwirken von Hitze und durch Stoffaustausch statt. Dadurch entsteht eine große Quantität an neu geformten, flüchtigen Verbindungen, die eine wichtige Rolle in der Aromaentwicklung des Endproduktes spielen. Diese Komponenten sind v.a. das Ergebnis der Maillard-Reaktion [REGA et al., 2009], die ebenfalls bei der Entstehung des typischen Schokoladenaromas mitwirkt und in ebendiesem Kapitel näher erläutert wird.

Gleich wie bei der Schokoladenherstellung ist auch beim Backen von Getreideprodukten die Maillard-Reaktion nicht die einzige stattfindende thermische Reaktion. Auch die Karamellisierung und die Lipidoxidation spielen bei der Entstehung von geruchsaktiven Verbindungen wie aliphatischen Aldehyden und Furfural mit [REGA et al., 2009].

### 2.2.3 Typische Lebkuchengewürze

Eine besondere Rolle bei der Lebkuchenherstellung wird aber auch den verschiedenen Gewürzen zuteil, die traditionellerweise häufig in der Weihnachtszeit verwendet werden:

- Ingwer: *Zingiber officinale* Roscoe
- Zimt: *Cinnamomum verum*, *Cinnamomum cassia*
- Anis: *Pimpinella anisum* L.
- Nelken: *Syzygium aromaticum* L.
- Kardamom: *Elettaria cardamomum*
- Muskatnuss: *Myristica fragans* H.
- Vanille: *Vanilla planifolia*

Die verwendeten Gewürze weisen einen angenehm aromatischen Geruch und Geschmack auf [RITTER, 2003]. Dabei ist es v.a. dieser aromatische Geruch, der alte Erinnerungen an vergangene Winter heraufbeschwört. Wenn man an den Winter denkt, dann freut man sich auf die schweren Gerüche und Aromen der speziellen Gewürze, die Glühwein, Lebkuchen und andere Kekse prägen [IDLE, 2005].

Die ätherischen Öle der verwendeten Gewürze und deren flüchtigen Inhaltsstoffe werden aber auch teilweise in der Prävention und zur Behandlung verschiedener Krankheiten verwendet, wie z.B. bei Krebs, kardiovaskulären Erkrankungen wie Atherosklerose und Thrombose; weiters besitzen sie Bioaktivität als antibakterielle, antivirale, antioxidative und antidiabetische Wirkstoffe [EDRIS, 2007]. Gewürze verdanken diese antioxidativen Eigenschaften Inhaltsstoffen wie Flavonoiden, Terpenoiden, Carotinoiden, Phytoöstrogenen und Mineralien und dienen so auch als natürliches Konservierungsmittel im Essen [SUHAJ, 2006].

In einer Studie von Murcia et al. (2004) wurden die antioxidativen Eigenschaften von sieben „Dessert-Gewürzen“ untersucht. Darunter befanden sich auch die im Lebkuchen verwendeten Gewürze Anis, Zimt, Ingwer, Muskatnuss und Vanille. Deren Antioxidationskraft ist vergleichbar mit derjenigen von häufig zugesetzten Lebensmittel-AOs wie Butylat-Hydroxyanisol, Butylat-Hydroxytoluol und

Propylgallat. Zimt besitzt sogar eine höhere AO-Kapazität [MURCIA et al., 2004]. Anis hat vergleichbare antioxidative und antimikrobielle Aktivität mit den oben genannten Lebensmittel-AO und wirkt ähnlich stark wie  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) [GÜLCIN et al., 2003]. Verbindungen aus der Nelke (*Syzygium aromaticum*) hemmen das Wachstum von gram-negativen anaeroben parodontalen und oralen Pathogenen [CAI und WU, 1996]. Die antioxidative Wirksamkeit von Nelkenknospenextrakt und dessen wichtigsten Aromabestandteilen Eugenol und Eugenylacetat ist, ähnlich wie Anis, vergleichbar mit dem natürlichen AO  $\alpha$ -Tocopherol [LEE und SHIBAMOTO, 2001].

Der Konsum von gewürzten Speisen führte in Tierversuchen von Westerterp-Plantenga et al. (2006) zu einer größeren Thermogenese und in manchen Fällen zu schnellerer Sättigung. Dabei spielt auch Ingwer eine relevante Rolle. Die scharfen Inhaltsstoffe von Ingwer – die Gingerole und Shogaole – haben thermogenetische Eigenschaften. Diese Effekte wurden jedoch noch nicht im Menschen nachgewiesen [WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2006].

Da Lebkuchen im Englischen als „*gingerbread*“ bezeichnet wird, Ingwer einen wichtigen Bestandteil des Geschmacks und Geruchs von Lebkuchen darstellt und neuerdings oft Gegenstand von Studien ist, die seine ernährungsphysiologische Wirkung untersuchen, wird hier noch näher auf dieses Gewürz und seine Inhaltsstoffe eingegangen.

### **2.2.3.1 Ingwer**

Ingwer ist das Rhizom der mehrjährigen Pflanze *Zingiber officinalis* Roscoe und wird in vielen Ländern häufig als Würzmittel für verschiedene Gerichte verwendet, v.a. in Pulver- oder kandierter Form. [WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2006]. Ingwer zählt zu der meist verwendeten Spezies in der eigenen Familie und ist auch ein beliebter Bestandteil in verschiedenen Getränken. Er hat eine 2500 Jahre lange Geschichte, was seine medizinische Verwendung angeht. Traditionellerweise wurde Ingwer seit jeher für verschiedene Lebensmittel in unterschiedlichen Erdteilen verwendet, um die Verdauung zu unterstützen oder um Magenverstimmungen, Durchfall und Übelkeit zu behandeln [SHUKLA und SINGH, 2007; WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2006].

### 2.2.3.1.1 Aromastoffe des Ingwers

Ingwer besitzt ein breites Spektrum an ätherischen Ölen (2.5–3 %) und nicht flüchtigen Scharfstoffen. 20–25 % der ätherischen Öle macht Oleoresin aus [CHRUBASIK et al., 2005]. Hauptkomponenten der Fraktion an Scharfstoffen sind die Gingerole mit 25 % [SIEDENTOPP, 2008]. Der charakteristische scharfe Geschmack in frischem Ingwer wird diesen Gingerolen zugeschrieben, welche eine homologe Serie von Phenolen darstellen. Dazu gehören 6-Gingerol, 8-Gingerol und Zingeron [WESTERTERP-PLANTENGA et al., 2006]. Dabei ist das 6-Gingerol am häufigsten [ALI et al., 2008]. Shogaole, die im halbtrockenen Ingwer enthalten sind, besitzen eine intensivere Schärfe als Gingerole. Sie sind die Hauptdegradationsprodukte der thermisch labilen Gingerole und kommen nur selten in frischem Ingwer vor [CHRUBASIK et al., 2005; ALI et al., 2008].

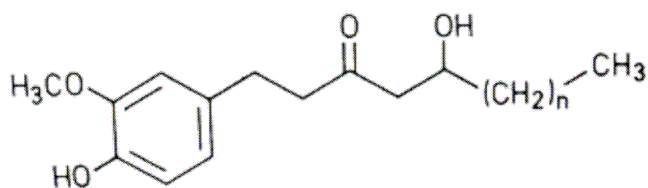


Abb. 6: Gingerole [SIEDENTOPP, 2008]

Die sensorische Wahrnehmung des Ingwers über Mund und Nase entsteht v.a. durch zwei verschiedene chemische Gruppen: Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe und Monoterpene [SHUKLA und SINGH, 2007].

Mittels GC-MS lassen sich über 60 Verbindungen im ätherischen Öl des Ingwers identifizieren. Die Hauptkomponenten sind Camphen,  $\beta$ -Phellandren und 1,8-Cineol. Andere Bestandteile sind (-)- $\alpha$ -Zingiberen, (-)- $\beta$ -Bisabolen, (+)-ar-Curcumen, (-)- $\beta$ -Sesquiphellandren und azyklisches  $\alpha$ -Farnesen [CHRUBASIK et al., 2005; ALI et al., 2008]. Sesquiterpenalkohole haben v.a. Einfluss auf den Geruch. Der Geschmack hingegen wird v.a. durch Monoterpene, wie Camphen, Limonen, Myrcen,  $\beta$ -Phellandren und  $\alpha$ -Pinen, Borneol, 1,8-Cineol, Citronellol, Geranial, Geraniol, Geranylacetat, Linalool, Neral u.s.w. geprägt [SHUKLA und SINGH, 2007; CHRUBASIK et al., 2005]. Ein hoher Gehalt an Neral und Geranial fördert eine zitronenartige Note [CHRUBASIK et al., 2005].



#### 2.2.3.1.2 Ernährungsphysiologische Wirkungen von Ingwerbestandteilen

Durch sein fast ubiquitäres Vorkommen, seinen geringen Preis und den unbedenklichen Konsum ist Ingwer in den letzten zwei Jahrzehnten in den Mittelpunkt intensiver wissenschaftlicher Forschungen gerückt, die seine antikanzerogene, antibakterielle, antifungale, hypoglykämische und antiatherosklerotische Wirkung bestätigten [SHUKLA und SINGH, 2007]. Zu den wichtigen pharmakologischen Wirkungen von Ingwer und dessen isolierten Verbindungen zählen weiters immun-modulierende, antitumorigene, anti-entzündliche, antiapoptotische, antilipidämische und antiemetische Effekte [ALI et al., 2008].

Ingwer enthält stark antioxidativ wirkende Substanzen und kann sogar eine Generation von freien Radikalen entschärfen oder vor ihnen schützen. Da einige metabolische Krankheiten und altersbedingte degenerative Beschwerden v.a. mit oxidativen Prozessen im Körper verbunden werden, verdient die Verwendung von Ingwer oder einem seiner Bestandteile als Quelle an Antioxidantien erhöhte Aufmerksamkeit [ALI et al., 2008]. Ingwer besitzt folgende AOs im Rhizom: 6-Gingerol, 6-Shogaol, Alanin, Ascorbinsäure,  $\beta$ -Carotin,  $\beta$ -Sitosterol, Koffeinsäure, Camphen,  $\gamma$ -Terpinen, Laurinsäure, Methionin, Myrcen, Myristicinsäure, p-Coumarinsäure, Palmsäure, Selen, Sucrose, Terpinen-4-ol, Tryptophan [SUHAJ, 2006].

U.a. kann Ingwer sogar als Bakterizid auf *Helicobacter pylori* einwirken, der das Risiko für eine gastrointestinale Ulceritis erhöht und weltweit zu den führenden Ursachen für Krebs zählt [LOW DOG, 2006]. Außerdem fördert der Konsum des Rhizoms einen Anstieg der Pankreas-Lipase. Diese Kombination von Ernährungs- und medizinischen Vorteilen beweist, dass Ingwer als *Functional Food* bezeichnet werden kann [STOILOVA et al., 2007].

Einige scharfe Bestandteile, die auch in anderen Zingiberaceae-Gewächsen vorkommen, haben beachtenswerte antientzündliche und antioxidative Eigenschaften und manche zeigen sogar eine vorbeugende Wirkung gegen Krebs bei experimentellen Karzinogenese-Versuchen. Diese antikanzerogenen Eigen-

schaften verdankt Ingwer u.a. dem Vorkommen von 6-Gingerol, 6-Paradol sowie den Inhaltsstoffen Shogaolen und Zingeron [SHUKLA und SINGH, 2007].

In zahlreichen klinischen Studien wurde gezeigt, dass Ingwer bei der Bekämpfung von postoperativem Erbrechen und Übelkeit während der Schwangerschaft nützlich ist [ALI et al., 2008]. Obwohl klinische und experimentelle Studien feststellen, dass Ingwer antiemetische Eigenschaften besitzt, ist eine eindeutige klinische Evidenz jedoch nur für schwangerschaftsbedingte Übelkeit und Erbrechen gegeben. Metaanalysen konnten keine postoperativen antiemetischen Effekte oder Wirkung auf Reisekrankheit oder durch andere Ursachen bedingte Übelkeit bestätigen [CHRUBASIK et al., 2005].

Relevante, pharmakologische Humanstudien bedürfen näheren Untersuchungen, um die Interaktion von Ingwerzubereitungen mit der Plättchenaggregation ausschließen zu können. Pharmakokinetische Daten sind nur für 6-Gingerol und Zingiberen erhältlich. Präklinische Sicherheitsdaten schließen eine potentielle Toxizität nicht aus, was ein Monitoring v.a. bei länger andauerndem Ingwerkonsum notwendig macht [CHRUBASIK et al., 2005].

## 2.3 Rosen – ein Duftexkurs

### 2.3.1 Allgemeines zu den heutigen Rosen

Rosen ziehen schon seit dem 18. Jahrhundert aufgrund der Wichtigkeit in der Aroma- und Duftstoffindustrie die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich. Blütenblätterextrakte und -öle von Rosen werden gern in Parfums und Kosmetikprodukten verwendet [VAN SCHIE et al., 2006]. Das Hauptziel der Forschungen war und ist meist die Wildrosenart *Rosa damascena*, obwohl auch Papers über viele andere Rosenarten oder -spezies veröffentlicht wurden. Die alten Rosensorten, wie z.B. *Rosa damascena*, repräsentieren eine große Population mit potenziellem Interesse für die Blumenzucht und die Duftstoffindustrie, da sie meist einen ausgeprägten und angenehmen Duft besitzen [ANTONELLIA et al., 1997]. Die modernen, kultivierten Rosen heutzutage sind das Resultat von jahrhundertlangen Züchtungen und durch vielfältiges Kreuzen von Wildrosen mit Hybriden sowie von Hybriden untereinander entstanden. Da nicht alle der wilden Rosen duften und der Stammbaum der Hybridsorten sehr komplex ist, erweist es sich als schwierig, den Ursprung der verschiedenen Düfte zu verfolgen oder deren Parfum vorauszusagen [BRUNKE et al., 1992].

Rosensorten, die momentan auf dem Schnittblumenmarkt gefragt sind, gehören häufig der Hybrid-Teerosen-Gruppe an. Sie stammen von komplexen Kreuzungen zwischen den europäischen und chinesischen Rosen ab, die im späten 19. Jahrhundert vorgenommen wurden. Während Jahrzehnten der Selektion wurden diese Sorten optimiert, wobei der Fokus v.a. auf der Knospenform, der Stiellänge, der Menge und Größe der Dorne, der Farbe und einer langen Haltbarkeit in der Vase lag. Der Duft zählte nicht zu den Selektionskriterien, sodass diese Eigenschaft der Vorfahren während der Selektion in den meisten Linien verloren ging. Aufgrund jüngster Nachfragen nach duftenden Schnittrosen versuchen nun viele Züchter, den Duft wieder in die kommerziell wichtigen Linien einzuzüchten [CHERRI-MARTIN et al., 2007].

### 2.3.2 Biosynthese von Duftstoffen in Blüten

Blumen sind besondere Pflanzenorgane, die mit ihrer Attraktivität um Insekten, Vögel und Säugetiere werben, um ihre eigene Bestäubung sicherzustellen. Ihre Hilfsmittel sind vielfältig: Form, Farbe und Duft äußern sich in enormer Diversität [VAN SCHIE et al., 2006]. Für Menschen sind die „Bestäuberanlockenden“, blumigen Düfte eine Quelle olfaktorischer Lust seit der Antike und es existiert heute eine große Zahl an aromatischen Pflanzen, die als Gewürze, Konservierungsmittel, Kräuterheilmittel oder auch in der Aromatherapie verwendet werden [PICHERSKY et al., 2006].

Blüten- und Kräuteraromen können viele verschiedene flüchtige Pflanzenverbindungen (FPV) enthalten, manchmal mit nur sehr geringen Überschneidungen in deren FPV-Profilen, sogar bei nahe verwandten Spezies. Dabei ist es ungewiss, ob die beobachteten Unterschiede hauptsächlich durch eine differenzierte Genexpression entstehen. Dass die meisten FPV auf ein paar ursprüngliche und abgeleitete Abstammungslinien begrenzt werden können, spricht für einen häufigen Wechsel in den enzymatischen Profilen, bedingt durch die Evolution. Fortschritte in den analytischen Techniken und molekularen und biochemischen Methoden haben die FPV zu einer der meistuntersuchten Gruppen von sekundären Pflanzenstoffen gemacht [PICHERSKY et al., 2006].

#### 2.3.2.1 Biosynthetische Stoffwechselwege

Duftende, flüchtige Pflanzenverbindungen (FPV) sind lipophile Moleküle mit einem hohen Dampfdruck, die verschiedene umweltrelevante Zwecke erfüllen. Die Synthese dieser flüchtigen Pflanzenstoffe beinhaltet die Abspaltung der hydrophilen Teile und Oxidations-, Hydroxylierungs-, Reduktions-, Methylierungs- und Acetylierungsreaktionen. Manche biosynthetischen Enzyme dieser flüchtigen Stoffe produzieren unterschiedliche Produkte aus einem einzelnen Substrat oder greifen auf mehrere Substrate ein [PICHERSKY et al., 2006].

Enzyme für die Biosynthese von FPV gehören oft großen Familien an: Spezifische chemische Modifikationen können nichtflüchtige Verbindungen in flüchtige verwandeln, die Flüchtigkeit von flüchtigen Stoffen steigern und deren olfaktori-

sche Eigenschaften verändern. Diese Art „biosynthetischen Tailorings“ ist für die kombinatorische Vielfalt von FPV, die nicht von Isoprenoiden abgeleitet werden, verantwortlich und trägt ebenfalls zu der ansteigenden Zahl an terpenoiden FPV bei. Pflanzen besitzen einzelne Familien an modifizierenden Enzymen, die ähnliche Reaktionen katalysieren, aber verschiedene Substrate benutzen. Eine Familie modifizierender Enzyme sind z.B. die Acyltransferasen, die z.B. den Transfer einer Acetylgruppe vom Acetyl-CoA zu Alkoholen wie Geraniol (Geranylacetat sorgt für eine ausgeprägte Note im Rosenduft) und 3-cis-Hexen-1-ol (3-cis-Hexenylacetat wird von zerstoßenen Blättern vieler Pflanzenarten emittiert) katalysieren [PICHERSKY et al., 2006].

FPV-modifizierende Enzyme entstehen häufig aus nicht FPV Enzymen: Ein illustres Beispiel ist eine Gruppe von O-Methyltransferasen, die die Bildung von duftenden Verbindungen u.a. in Rosen katalysiert. In Rosenblüten wird 1,3,5-Trimethoxybenzol aus Phloroglucinol (1,3,5-Trihydroxybenzol) über drei aufeinander folgende Methylierungen produziert. Ein Enzym, das als Phloroglucinol-O-Methyltransferase (POMT) bezeichnet wird, monomethyliert das Phloroglucinol, verliert aber bei den folgenden Methylierungen von Zwischenprodukten schrittweise seine Aktivität. Die zweite und dritte Reaktion wird von zwei sehr ähnlichen Proteinen katalysiert, von OOMT1 (Orcinol-O-Methyltransferase 1) und OOMT2. Diese Ähnlichkeit deutet auf neuere Genverdoppelungen und eine beginnende Genevolution hin [PICHERSKY et al., 2006].

### **2.3.2.2 Räumliche und zeitliche Modulation der Biosynthese**

In Blumen findet die Biosynthese von FPVs gewöhnlich in den Zellen der Epidermis statt, die eine leichte Ausströmung der FPV in die Atmosphäre ermöglichen [PICHERSKY et al., 2006]. Die epidermalen Zellen von Rosenblütenblättern stellen ein nichtphotosynthetisches Gewebe dar, welches u.a. den Desoxyxylulose-Pyruvat-Weg für die Biosynthese der Monoterpenalkohole sowie der Monoterpenverbindungen von fettlöslichen langkettigen Fettsäureester und von wasserlöslichen Glycosiden beherbergt [DUNPHY, 2006].

Die Summe an Biosynthesen von Blatt-FPV ist typischerweise dann am höchsten, wenn die Blätter jung und nicht ganz ausgeweitet sind und den meisten

Schutz benötigen, den die FPV direkt durch ihre Toxizität für Pflanzenfresser oder indirekt durch das Anlocken der Feinde von Pflanzenfressern bieten [PICHERSKY et al., 2006]. Die Duftstoffproduktion in den Blütenblättern der Hybridrose (*Rosa hybrida*) und der wilden Arten (*Rosa damascena* und *Rosa chinensis*) steigt während der Blütenentstehung an. An der Spitze dieses entwicklungsbedingten Anstiegs werden die flüchtigen Stoffe in einem speziellen Tagesrhythmus emittiert, mit dem Höhepunkt am Tagesende [VAN SCHIE et al., 2006]. Hohe Werte werden ebenfalls beobachtet, wenn Blumen bereit für die Bestäubung sind; die Menge sinkt jedoch gleich nach der Befruchtung drastisch ab. Der Grad an Biosynthesen hängt mit den Levels der Genkopien, welche die endgültigen biosynthetischen Enzyme kodieren, und mit der Konzentration an Substraten zusammen. Die FPV-Synthese oder -Emission kann durch umweltbedingte Faktoren wie Licht, Temperatur und Feuchtigkeit beeinflusst werden [PICHERSKY et al., 2006]. Selbst wenn Blüten einer „künstlichen“ 12-stündigen Lichtperiode ausgesetzt werden, zeigen die flüchtigen Verbindungen eine maximale Emission während der Lichtperiode und unterschiedliche Rhythmik der einzelnen Bestandteile untereinander [HELSPER et al., 1998].

Ein Beispiel für einen flüchtigen Pflanzenstoff, der einer tagesbedingten Synthese unterliegt, ist der Rosenduftstoff  $\beta$ -D-Glucopyranosid, aus dem in weiterer Folge 2-Phenylethanol entsteht.  $\beta$ -D-Glucopyranosid sammelt sich in den letzten 12 h vor dem Öffnen der Rosenblüte an und dient gleichzeitig als Reservoir für Benzylalkohol, der während der späteren Phase des Öffnens der Knospe freigesetzt wird und gleichzeitig mit einem fünffachen Anstieg der  $\beta$ -Glucosidase-Aktivität in den Blütenblättern einhergeht [DUNPHY, 2006]. Die Produktion und Emission von Duftstoffen in Blumen wird demnach während der ganzen Blütenlebensdauer streng reguliert [VAN SCHIE et al., 2006].

Das Wissen über die Duftstoff-Biosynthese ist immer noch lückenhaft. Die Vererbung des Duftes während der Rosenkreuzung wurde nie untersucht, trotz der Tatsache, dass einige Studien die Erbllichkeit einer großen Zahl anderer Blüteneigenschaften von Rosen, wie z.B. erneutes Blühen, Blütenanzahl und Blütenfarbe, charakterisieren konnten [CHERRI-MARTIN et al., 2007].

### 2.3.3 Duftstoffe in Rosen

Mehr als 400 bekannte, flüchtige Verbindungen werden von Rosen emittiert. Die meisten davon kann man in drei Kategorien einordnen [CHERRI-MARTIN et al., 2007].

#### 2.3.3.1 FPV aus dem Isoprenoid-Stoffwechsel

Die größte Klasse an FPV leitet sich vom Isoprenoid-Stoffwechsel ab. In Pflanzen generieren der zytosolische Mevalonatweg und der Methylerythritol-Phosphat-Weg in den Plastiden die C5-Verbindung Isopentyl-Pyrophosphat (IPP) und sein Isomer Dimethylallyl-Pyrophosphat (DMAPP) [VAN SCHIE et al., 2006]. Die Pyrophosphat-Verbindungen, die in weiterer Folge daraus entstehen, dienen als Precursor vieler primärer Metaboliten [PICHERSKY et al., 2006]. Die Kopplung zwischen diesen zwei Stoffwechselwegen auf dem Level der Metaboliten schafft eine neue, komplexe Ebene. Pflanzen besitzen ebenfalls Enzyme, die Terpensynthasen, welche die Bildung von verschiedenen flüchtigen Hemi-, Mono-, Sesqui- und Diterpenverbindungen aus den oben genannten IPPs katalysieren [VAN SCHIE et al., 2006; PICHERSKY et al., 2006].

Terpene kommen unter Duftstoffen generell am häufigsten vor und setzen sich aus Monoterpenalkoholen und Sesquiterpenen zusammen. Monoterpenalkohole und -aldehyde, wie Nerol, Citronellol, Geraniol und Geranial sind typisch für europäische Rosensorten. Sie verleihen ihnen den charakteristischen „süßen“ Duft. Diese vier Verbindungen entstehen auf dem gleichen biosynthetischen Stoffwechselweg. Untersuchungen an der Sorte *Rosa damascena* zeigen, dass Geraniol, welches aus Geranyl-Pyrophosphat produziert wird, in Citronellol und andere Monoterpenderivate umgewandelt werden kann. Andere Studien beweisen, dass diese Substanzen in den Blütenblättern als glycosylierte Derivate vorkommen. Es ist jedoch noch unklar, ob diese glycosylierten Formen Aroma-Precursor oder Degradationsprodukte darstellen. Diese Tatsache beweist wiederum, dass die Forschung noch weit davon entfernt ist, die verschiedenen biosynthetischen Stoffwechselwege aufgeklärt zu wissen [CHERRI-MARTIN et al., 2007].

Neben diesen wichtigen Verbindungen existieren auch Terpenderivate wie Ketone, die zwar in extrem geringen Mengen vorhanden sind, jedoch aufgrund ihrer hohen olfaktorischen Kapazität merklich zum Duft der Rosen beitragen. Ketone wie Dihydro- $\beta$ -Ionon und Dihydro- $\beta$ -Ionol spielen eine wichtige Rolle im Rosenduft, weil sie eine extrem niedrige olfaktorische Reizschwelle besitzen [CHERRI-MARTIN et al., 2007]. Dihydro- $\beta$ -Ionon ist wahrscheinlich für einen charakteristischen, himbeerähnlichen Geruch in manchen Rosensorten verantwortlich. Die Iononderivate und Teespirane sind Verbindungen, die durch oxidative oder enzymatische Degradation von Carotinoid-Pflanzenfarbstoffen entstehen können. Sie sollten also nur in jenen Rosen detektierbar sein, die – zusätzlich zu den Flavonoiden und Anthocyaninen – auch Carotinoide als Pigmente besitzen [BRUNKE et al., 1992].

Germacren D, welches in einigen Rosenarten vorkommt, gehört zur Sesquiterpenfamilie und ist ein gewöhnlicher Bestandteil von vielen Pflanzenaromen. Germacrene werden als gebundene oder freie Zwischenprodukte in der Biosynthese von anderen Sesquiterpenen betrachtet. Es wurde gezeigt, dass sie Schlüssel-Antwortelemente für die Anlockung von Insekten sein können [CHERRI-MARTIN et al., 2007].

Die Esterbildung, besonders von flüchtigen Estern wie Acetaten, verleiht vielen Pflanzen einen ausgeprägten und charakteristischen Blütenduft. Diese Ester basieren hauptsächlich auf dem azyklischen Monoterpenalkohol Geraniol, der primär mit Fettsäuren der Kettenlängen zwischen C16 und C20 gekoppelt ist und – in Prozentanteilen – 14-64 % des totalen Monoterpengehalts in den Blütenblättern ausmacht. Geranylacetat stellt beispielsweise den dominanten Ester im Öl der Sorte *Rosa damascena* Miller dar, daneben sind auch kleinere Mengen an Citronellylacetat und Formiat präsent. Diesen kurzkettigen Estern kann man einen frischen Geruch zuschreiben. Der Mechanismus der Bildung von Estern dieses Typus geht über Alkoholacyltransferasen. Interessant ist außerdem, dass größere, reifere Blüten ein höheres Verhältnis an veresterten Terpenen besitzen als kleinere, jüngere Knospen [DUNPHY, 2006].



### 2.3.3.2 FPV mit aromatischem Ring

Die zweitgrößte Klasse der FPV besteht aus Verbindungen, die einen aromatischen Ring besitzen. Obwohl nicht alle Reaktionen der Synthese von Basisgerüsten untersucht worden sind, werden die meisten aromatischen Verbindungen von Zwischenprodukten aus dem Stoffwechselweg abgeleitet, der von Shikimat zu Phenylalanin und dann zu einer großen Anzahl von primären (wie Lignin) und sekundären nichtflüchtigen Verbindungen führt [PICHESKY et al., 2006].

Aromatische Verbindungen kommen in manchen Rosensorten in relativ hohen Mengen vor. 2-Phenylethanol besitzt einen rosenartigen Duft (Strukturformel siehe Abbildung unten) und andere Verbindungen wie 3,5-Dimethoxytoluol (DMT) liefern den charakteristischen „Tee-Geruch“ von Teerosen. In den Untersuchungen von Cherri-Martin et al. (2007) wurde der Geruch von Rosen, die einen hohen Anteil an DMT enthalten, als ungefällig und als zu „grün“ oder sogar als zu „würzig“ empfunden. Chinesische Rosen emittieren daneben noch 1,3,5-Trimethoxybenzol, welches ebenfalls nicht in europäischen Rosen vorkommt. Der Duft der europäischen Sorten wird hauptsächlich von 2-Phenylethanol und Monoterpenalkoholen charakterisiert [CHERRI-MARTIN et al., 2007]. Auch diese aromatischen Verbindungen kommen zum Teil als nichtflüchtige Glucosidderivate in den Blütenblättern vor, darunter auch Benzylalkohol [DUNPHY, 2006].

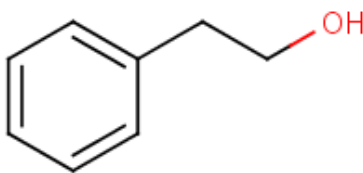


Abb. 7: 2-Phenylethanol [EBI, 2009]

### 2.3.3.3 FPV aus Fettsäuren

Eine dritte Gruppe von FPV wird durch oxidative Spaltung und Decarboxylierung von verschiedenen Fettsäuren abgeleitet, was in einer Produktion von kurzkettigen flüchtigen Stoffen mit Aldehyd- und Ketonresten resultiert, die häufig als Precursor für die Biosynthese von anderen FPV dienen [PICHESKY et al., 2006]. Lipidderivate, die von (Kelch)-blättern synthetisiert werden, sobald

eine Verletzung vorliegt, verleihen dem allgemeinen Rosenduft eine grüne Note [CHERRI-MARTIN et al., 2007]. Zu den komplexen Serien an neutralen Lipiden der Rosenblütenblätter zählen u.a. Sterole, Sterolester, Alkane, Alkene, Ketone,  $\gamma$ -Lactone und längerkettige Wachsester [DUNPHY, 2006].

### 2.3.4 Unterschiede bei den verschiedenen Rosendüften

Die Zusammensetzung der für den Duft verantwortlichen FPV variiert sehr stark je nach Rosensorte. In einer Headspace-SPME-Analyse des essentiellen Öls der *Rosa damascena* L. aus China mit anschließender gaschromatographisch-spektroskopischen Auftrennung (GC-FID und GC-MS) und olfaktorischen Prüfung von Jirovetz et al. wurden Monoterpene als wichtige Schlüsselkomponenten identifiziert. Zusätzlich wurden einigen aliphatischen Kohlenwasserstoffen fixierende Eigenschaften zugeschrieben. Jene könnten für einen länger währenden Geruchseindruck des Rosenöls relevant sein [JIROVETZ et al., 2005].

Bei 24 unterschiedlichen Rosendüften, die von Antonellia et al. (1997) in ihrer Studie untersucht wurden, stellte 2-Phenylethanol meist die Hauptverbindung unter den Duftbestandteilen dar. Nur fünf Sorten wiesen eine Phenylethanolkonzentration < 50 % auf. Benzylalkohol, Nerol, Geraniol, Geranylacetat und Kohlenwasserstoffe repräsentierten die restlichen wichtigen Bestandteile der untersuchten Rosenextrakte. Benzaldehyd und Benzylbenzoat waren ebenfalls meistens enthalten. In einer Rosensorte wurden auch 2-Methyl-3-buten-1-ol und 2-Methyl-cis-2-buten-1-ol gefunden, die zuvor noch nie in Rosenextrakten detektiert werden konnten. Weiters konnte auch 4-Vinylphenol nachgewiesen werden, das ebenfalls nicht in der Literatur über Rosenduftstoffe aufscheint. 4-Vinylphenol ist ein bekanntes Ligninteilstück und wird zudem durch *Saccharomyces*-Hefen während der alkoholischen Fermentation produziert. Diese Ergebnisse zeigen v.a. die großen Unterschiede in der Zusammensetzung der 24 verschiedenen Rosendüfte auf [ANTONELLIA et al., 1997].

Ein wichtiger Aspekt, der beim Duft von Rosen aber auch bei dem von anderen Pflanzen berücksichtigt werden muss, ist der „Zustand“ der Pflanze. Nur

wenigen Menschen ist bewusst, dass die meisten Früchte und Blumen, wenn sie gepflückt worden sind, ein anderes Aroma besitzen wie als ganze, lebende Einheit. Dieses Aroma verändert sich fortlaufend während des Prozesses der Verwesung. Somit kann z.B. das Öl, welches aus gepflückten Pflanzenteilen gewonnen wird, nicht das Aroma der „lebenden Materie“ nachbilden. Am Beispiel der gelben Teerosen zeigen die Autoren Mookherjee et al. (1990), dass die Zusammensetzung des Aromas der gepflückten Rose merkliche Unterschiede zu dem der lebenden Rose aufweist. Cis-3-hexenylacetat, welches mit 20 % ein Hauptbestandteil des Duftes der lebenden Blüten darstellt, sinkt auf bis zu 5 % im Duft der gepflückten Rose ab. Gleichzeitig verdoppelt sich in der gepflückten Rose der Gehalt an 3,5-Dimethoxytoluol, einer der charakteristischen Aromastoffe der Teerose. Wichtige Bestandteile wie 2-Phenylethanol und dessen Acetat hingegen verringern sich im Duft der gepflückten Blüte. Die Autoren untersuchten auch den Duft von verschiedenfarbigen Rosen der gleichen Familie und stellten fest, dass die Blütenfarbe einen Einfluss auf das Aromaprofil besitzt. Die Ergebnisse zeigten merkliche Unterschiede zw. den Aromakomponenten der verschiedenfarbigen Blüten [MOOKHERJEE et al., 1990].

### **2.3.5 Wirkung von Rosenduft und Rosenöl auf den Menschen**

In der Aromatherapie ist Rosenöl für seine beruhigende Wirkung und besonders bei Depressionen, Apathie und Trauer bekannt. Es wird bei Schlaflosigkeit, Kopfweh, Migräne, nervösen Anspannungen und Stress eingesetzt. Zusätzlich wird berichtet, dass es die Gedächtnisleistung verbessert und einen Eindruck des Wohlbefindens hinterlässt [HONGRATANAWORAKIT, 2009]. Im Menschen bewirkt Rosenöl eine Reduktion der relativen sympathischen Nervenaktivität von 40 % und ein Absinken in der Plasma-Adrenalin-Konzentration um 30 %. Die Ergebnisse der Studie von Hongratanaworakit (2009), die die Wirkung von Rosenöl nach transdermaler Absorption auf autonome Parameter und auf emotionaler Ebene an gesunden Probanden untersuchte, deuten auf einen beruhigenden Effekt von Rosenöl hin und liefern einige Evidenz für den Gebrauch von Rosenöl in der Aromatherapie am Menschen, v.a. zur Linderung von Depressionen und Stress.

## 2.4 Aroma- und Duftstoffanalyse: SPME mit anschließender GC-MS-Auftrennung

Bei der Identifizierung der Zusammensetzung eines bestimmten Lebensmittel- oder Pflanzenaromas (bzw. dessen Headspace = Dampfraum) muss man sich den Problemen rund um die Probenahme und die darauffolgende Detektion stellen. Riech- bzw. Duftstoffe werden im Headspace (HS) in nur sehr geringen Konzentrationen (ppm) gefunden, was eine Verdichtung/Anhäufung vor der Analyse erfordert [DEIBLER et al., 2002]. In der Aromaanalyse sind die Eingrenzung der Analyte, die untersucht werden sollen, und infolgedessen die Probenvorbereitungsschritte ein absolutes Muss für eine erfolgreiche Messung [SIDES et al., 2000].

### **2.4.1 Solid Phase Microextraction**

Ein bedeutender Fortschritt in der statischen HS-Analytik ist die Entwicklung der Solid-Phase-Microextraction (SPME)-Methode, die eine schnelle und einfache Probenahme – ohne Lösungsmiteileinsatz und komplizierte Apparaturen – für das Sammeln von flüchtigen Verbindungen mit Detektionsgrenzen bis in den ppbv (part per billion by volume)–Bereich darstellt [THOLL et al., 2006; SUPELCO, 1998]. V.a. HS-SPME ist ideal dazu geeignet, sogenannte „Fingerabdrücke“ von Lebensmittel- oder Pflanzenaromen zu erstellen. Der Hauptvorteil dabei liegt bei der Fähigkeit, flüchtige Stoffe ohne Beeinträchtigung durch Matrixkomponenten zu isolieren und anzureichern. HS-SPME zeigt eine höhere Sensibilität für flüchtige und semi-flüchtige Aromastoffe als andere konventionelle statische HS-Probenahmen-Methoden, obwohl konventionelle HS-Untersuchungen gewöhnlich sensitiver bei Analysen von Aromaverbindungen mit extrem hoher Flüchtigkeit sind [SIDES et al., 2000].

SPME basiert auf Adsorption und Desorption von flüchtigen Stoffen auf einer inerten Faser, die mit verschiedenen Typen von Adsorbenten beschichtet ist. Diese Beschichtung sorgt für eine Extraktion und Konzentration der Analyte, entweder durch das Eintauchen in eine flüssige Phase oder durch die Exposition in einer Gasphase [DEIBLER et al., 2002].



Abb. 8: Portable SPME-Field Sampler [SUPELCO, 1998]

Die Faser ist im Inneren einer Nadel einer modifizierten Spritze befestigt. Flüchtige Verbindungen können durch das Ausfahren dieser Nadel durch ein Septum im Headspace gesammelt werden. Nach dem Sammeln kann die Faser zurück in die Nadel eingefahren und in einen Gaschromatographen zur direkten thermalen Desorption überführt werden [THOLL et al., 2006]. Unter der SPME-Methode versteht man also eine Probenvorbereitungstechnik, die das Sammeln, Isolieren und Konzentrieren der Analyte beinhaltet [OUYANG und PAWLISZYN, 2008]. Die thermische Desorption der flüchtigen Verbindungen aus der Faser beseitigt den Bedarf an Lösungsmitteln, die Verunreinigungen enthalten und mit den Probenanalyten interferieren können [THOLL et al., 2006].

SPME wurde im Jahr 1990 zum ersten Mal eingesetzt, daraufhin optimiert und automatisiert und ist seit 1993 kommerziell erhältlich [DEIBLER et al., 2002]. Seine einfache Handhabung, die relativ kurze Zeit für die Probenabwicklung und die Faser-Wiederverwendbarkeit (bis zu 100mal) machen SPME zu einer attraktiven Wahl für viele Anwendungsverfahren. Seitdem wird SPME weitläufig für das „Samplen“ und die Analyse von Umwelt-, Lebensmittel-, aromatischen, metallischen, gerichtsmedizinischen und pharmazeutischen Proben verwendet [OUYANG und PAWLISZYN, 2008].

Mobile, tragbare „Feld-Sampler“ (siehe Abb. 8), die einen speziellen Verschlussmechanismus besitzen, ermöglichen Probenahmen im Freien und eine Aufbewahrung der Proben für eine spätere Analyse im Labor [THOLL et al., 2006].

#### **2.4.1.1 Nachteile**

SPME ist eine unvollständige Extraktionstechnik, bei der nur ein kleiner Teil der Zielanalyte von der Probenmatrix freigesetzt wird. D.h., dass Verbindungen nur selektiv adsorbiert werden. Eine unvollständige Extraktion weist auf den Bedarf an einer genauen Kalibration der SPME-Methode für eine quantitative Analyse hin [OUYANG und PAWLISZYN, 2008; DEIBLER et al., 2002].

Verglichen mit „vollständigen“ Techniken resultiert aus der SPME-Anwendung aber eine bessere Charakterisierung und eine genauere Information über das untersuchte System oder den Prozess [OUYANG und PAWLISZYN, 2008].

#### **2.4.1.2 Wichtige Variablen und Parameter bei der SPME-Methode**

SPME bietet v.a. in der Headspace-Anwendung viele Möglichkeiten für eine Aromaanalyse. Die Ausschöpfung des ganzen Potentials erfordert eine größere Gewichtung auf die Kontrolle der Variablen, welche für eine selektive Adsorption der Analyte wichtig sind [SIDES et al., 2000].

Die Konditionen für den Gebrauch von SPME muss für jedes Experiment einzeln definiert werden. Variablen, die festgelegt werden müssen, beinhalten u.a. Probenparameter (wie z.B. Temperatur oder Größe), Faserbeschichtung, Adsorptionszeit, Desorptionszeit und -tiefe im GC-Injektor (z.B. 2 min) [DEIBLER et al., 2002]. Bei einer genauen Auswahl der Polarität und Dicke der Faserbeschichtung können Verbindungen von verschiedener Polarität und Flüchtigkeit, die von hochsiedenden oder semi-flüchtigen bis hin zu flüchtigen Stoffen reichen, gesammelt werden [THOLL et al., 2006].

Diese Parameter kontrollieren die Adsorptionsmenge auf der SPME-Faser. Die Flüchtigkeit der Analyte muss primär berücksichtigt werden, während die Analytkonzentration und die Ionenstärke genauso eine wichtige Rolle spielen.

Generell sind die Adsorptionsraten hoch, wenn die Konzentrationen der Analyte ebenfalls hoch sind [SIDES et al., 2000].

Verschiedene Faktoren beeinflussen weiters die Präzision der Methode: die Positionierung der Faser im Injektor (sie muss sich während der Desorption im heißesten Part befinden) und der zeitliche Abstand zwischen Analytextraktion und -desorption (kurze Abstände minimieren die Evaporation der flüchtigen Analyte von der Faser) [SUPELCO, 1998].

#### **2.4.2 Auftrennung mittels GC-MS-Kopplung**

Als häufig verwendete Techniken – nach der Probenaufbereitung durch SPME – gelten chromatographische Messungen, die die Auflösung der Aromabestandteile und die Wiederherstellung der Aromaempfindung, indem verschiedene statistische Ansätze gemacht werden, einschließen [SIDES et al., 2000]. Nachdem die SPME-Faser der Probe ausgesetzt wurde, können die adsorbierten Analyte thermisch in einer konventionellen GC-Injektionsöffnung desorbiert werden [DEIBLER et al., 2002]. Durch die vollständige Desorption der ganzen Probe in den Injektor sind jedoch keine wiederholten Injektionen möglich [THOLL et al., 2006].

Dank seiner exzellenten Auftrennungskraft und der extremen Sensitivität bleibt der Gaschromatograph (GC) der Standard für die Analyse von flüchtigen Stoffen, wenngleich neue „elektronische Nasen“ viel versprechende Techniken darstellen [SIDES et al., 2000]. Daneben macht jedoch die Komplexität von vielen Probenextrakten eine totale Auflösung aller Komponenten und verunreinigter Peaks unmöglich, was die Interpretation der Daten erschwert. Multidimensionale chromatographische und gekoppelte Techniken wie beim Gaschromatograph-Massenspektrometer (GC-MS), die die Vorteile des GC-Gerätes mit der Kapazität der Spektrometrie für die Identifizierung von Verbindungen kombinieren, haben sich als unbezahlbar herausgestellt [SIDES et al., 2000].

SPME bietet bei einer Auswertung mit GC-MS Signalhöhen an, die proportional zu der freien Konzentration des Zielanalyts sind. Diese einzigartige Eigenschaft von SPME mit GC-MS-Kopplung erlaubt die Bereitstellung von zusätzlicher In-

formation über das untersuchte System für die Messung von bindenden Konstanten in komplexen Matrixen [OUYANG und PAWLISZYN, 2008].

Für die Identifikation der Verbindungen nach der GC-MS-Analyse können Vorschläge von den populären Messenspektren-Bibliotheken wie Wiley und NIST MS Databanken und solche, die Retentionsindex-Daten wie das Kovats-Index-System bereitstellen, erhalten werden [THOLL et al., 2006].



### 3 MATERIAL UND METHODEN

Wie schon in der Einleitung erwähnt, wurden die zu untersuchenden Plätze bzw. Gerüche vom WWTF-Projekt vorgegeben bzw. den Zielen dieser Studie angepasst. Neben den Düften der Rosen im Volksgarten und dem typischen „Mannergeruch“ im 16. und 17. Bezirk wurden parallel der Duft von Flieder und der Geruch von einigen Wiener Bäckereien untersucht, was jedoch Thema einer anderen Diplomarbeit (von B. Schaupp) ist. Im Vorfeld dieser Messungen wurden weiters Gerüche in Kaffeehäusern identifiziert (siehe Diplomarbeiten von M. Pestitschek [Sept. 2008] und P. Pauzenberger [April 2009] an der Universität Wien).

#### 3.1 Gegenstand, Ort und Dauer der Untersuchungen

##### 3.1.1 Gerüche auf dem Betriebsgelände der Josef Manner AG & Company, 16. Bezirk Wien

Standort	Geruchsquelle	Umgebungstemp.	Wetterverhältnisse
Conchierraum	Schokolade	40 °C (Raumtemp.)	-----
Backautomat/Laufband	Lebkuchen	40 °C (Raumtemp.)	-----
Firmeninnenhof	„Manner“	30 °C (Außentemp.)	sonnig, windstill

Tab. 3: Messungen bei Manner

Auf dem Betriebsgelände der Firma Manner waren zur Zeit der Probenahme (Juni 2008) zwei verschiedene Gerüche vorherrschend: der Geruch nach Schokolade, die ganzjährig hergestellt wird und der nach Lebkuchen, welcher schon im Vorhinein für die kommende Weihnachtszeit produziert wurde. Das Schokoladenaroma wurde während des Conchierprozesses direkt bei den Conches in den Produktionsräumen gesammelt. Die Probenahme für das Lebkuchenaroma erfolgte ebenfalls innerhalb des Firmengebäudes, nämlich während des Backprozesses in unmittelbarer Nähe des Lebkuchen-Laufbandes nach dem Backautomat. Die anschließenden Messungen im Hof der Firma Manner fanden im Freien statt und sollten das Zusammenspiel der verschiedenen, von Manner produzierten Gerüche wiedergeben. Die Messdauer

an allen drei Standorten betrug jeweils zwei, vier und sechs Stunden (Messbedingungen siehe Tabelle).

### 3.1.2 Rosendüfte im Volksgarten, 1. Bezirk Wien

Standort	Geruchsquelle	Messtemperatur	Messdauer
Rosenbeet	Rosen Friesia	25 °C	2 h, 4 h, 6 h
Parkbank in Rosennähe	versch. Sorten	25 °C	2 h, 4 h, 6 h
Blütenblätter (im Vial)	Rose Duftwolke	Messung im Labor	18 h
Rosenblüte	Rose Duftwolke	20 °C	1 h

Tab. 4: Messungen im Volksgarten

Die Messungen im Volksgarten fanden im Mai 2008 während der ersten Rosenblüte des Jahres statt, die Messbedingungen werden in der Tabelle veranschaulicht. Bei der Probenahme wurde versucht, Standorte mit möglichst intensiv wahrnehmbarem Rosenduft auszuwählen. Das Rosenbeet der stark duftenden Rosensorte *Friesia* mit gelber Blütenfarbe stellt das größte Beet mit den meisten Rosen mitten im Volksgarten dar. Viele Parkbänke liegen in unmittelbarer Nähe des *Friesia*-Rosenbeetes und werden zusätzlich von anderen Rosensorten flankiert. Eine Parkbank wurde deshalb als zweiter Probenahmeplatz gewählt, um jenen Duft aufzufangen, den Besucher des Volksgartens – die eine Sitzgelegenheit wahrnehmen – von den Bänken aus riechen können.

Unter den vielen verschiedenen Rosenstöcken, die im Volksgarten kultiviert werden, zeichnen sich nur wenige Rosensorten durch einen gut wahrnehmbaren Blütenduft aus. Eine unter den seltenen duftenden Exemplaren ist die Rose „*Duftwolke*“. Wenige cm vor einer Blüte dieser Rosensorte wurde eine einstündige Messung durchgeführt, um den Duft direkt bei einer sich öffnenden Rosenblüte aufzufangen. Zusätzlich erfolgte im Labor eine Headspace-Messung der frisch gepflückten *Duftwolke*-Blütenblätter im Glasröhrchen (Vial). Ein Vergleich zwischen dem Duft der intakten Rosenblüte und den gepflückten Blütenblättern sollte zustande kommen.

### 3.2 SPME-Probenahme

Die Probenahme erfolgte mittels tragbaren SPME-Feld-Samplern (portable Field Sampler) der Marke Supelco (Sigma Aldrich ©), die vor Ort montiert/aufgestellt und deren Faser zur Messung für unterschiedliche Dauer ausgefahren wurde. Da der Großteil der durchgeführten Messungen im Freien stattfand und man bemüht war, die Messbedingungen relativ konstant zu halten, wurden Faktoren wie das Wetter und die Temperatur während der Messungen protokolliert und berücksichtigt: Die Probenahme fand nur an sonnigen Tagen und bei relativ windstillen Verhältnissen statt; Die Außentemperatur schwankte meist nur zwischen wenigen °C. An jedem Standort wurden Messungen mit einer Dauer von zwei, vier und sechs Stunden durchgeführt. Richtwerte für eine optimale Messdauer lassen sich aus verschiedensten Studien entnehmen, darunter die von Tonidandel et al. (2006). Sie untersuchten die Luftzusammensetzung in einem italienischen Park (Dolomitenregion), wobei ein tragbarer SPME-Sampler an verschiedenen Stellen des Parks für fünf Stunden platziert wurde. Verwendet wurden die gleichen mit Carboxen/Polydimethylsiloxan (75 µm) beschichtete SPME-Fasern, die passend für das Anhaften von apolaren und flüchtigen Metaboliten von mittlerer Polarität sind.

Augenmerk wurde auch auf Störfaktoren bzw. Verfälschungen während der Messungen, wie z.B. durch Parfums, Kosmetika und intensive Waschmittelgerüche gelegt. Daher wurde erstens von Seiten der Diplomanden kein Gebrauch von stark duftenden Produkten gemacht und zweitens vom Standort, an dem der SPME-Sampler aufgestellt wurde – wenn möglich – ein Abstand von einem bis mehreren Metern eingehalten. Nicht möglich war ein Abstand während Messungen, bei denen der Sampler eigens für die Probenahme gehalten werden musste (dazu zählt z.B. die einstündige Rosenduftmessung an einer Blüte der Züchtung *Duftwolke*, bei der das Gerät händisch direkt vor die Blüte gehalten wurde).

Die Auftrennung bzw. Desorption der gesammelten Verbindungen von der SPME-Faser im GC-Injektor erfolgte meist innerhalb einer Stunde nach Pro-

benahme. Kam es zu längeren Abständen zwischen Probenahme und Analyse, so wurden die SPME-Sampler bei 7 °C (+/- 2 °C) bis zum Analysebeginn aufbewahrt, um Degradationen und Verluste der gesammelten Verbindungen zu vermeiden.

Nach jeder Injektion in das GC-Gerät und vollständiger Analyse wurden die SPME-Fasern für die Gesamtdauer des verwendeten Temperaturprogrammes (55.33 min) ausgeheizt – d.h. während der Laufzeit des Programms im Injektorblock bei 250 °C belassen –, damit keine Substanzen zur nächsten Messung verschleppt werden bzw. folgende Messungen nicht durch vorhergehende, nicht desorbierte Verbindungen verfälscht werden konnten. Diese Leerläufe wurden auch anhand der erhaltenen Chromatogramme protokolliert. Außerdem konnte durch die relative Höhe und Menge der in diesen Chromatogrammen enthaltenen Peaks abgeschätzt werden, ob Verunreinigungen oder Restbestandteile auf der Trennsäule des GC-Gerätes vorhanden waren.

### 3.3 Entwickelte Methode für GC-MS-Auftrennung

Da diese Arbeit an die Kaffeehaus-Raumluftmessungen, die ebenfalls Teil des WWTF-Projektes sind, anschließt, wurden die zuvor entwickelten Methoden und Einstellungen am GC-Gerät übernommen. Es wurden zwar eigene Versuche mit verschiedenen Einstellungen am GC durchgeführt, doch erwies sich die von den Vorgängern entwickelte Methode für die Messungen des Geruchs in Kaffeehäusern auch bei den Messungen von Schokoladen-, Lebkuchen- und Rosenduft bzw. -aroma als am besten geeignet und wurde deshalb nicht weiter abgeändert.

Die übernommene Methode wurde von den Entwicklern (Patricia Pauzenberger, Marianne Pestitschek und René Klucky) aus vielen Testversionen optimiert und zuletzt mit fünf Reinsubstanzen der Firma Sigma-Aldrich, die im Kaffee- aber auch zum Teil im Schokoladen- und Rosenaroma vorkommen können, getestet: Zu diesen fünf Substanzen zählen 2-Methoxy-3(1-methylpropyl)-pyrazin, 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanon (Erdbeurfuranon), Damascenon, Guajacol (2-Methoxyphenol) und 2-Methoxy-4-vinylphenol. Da diese Verbindungen er-

folgreich identifiziert werden konnten und die Methode außerdem ein übersichtliches Chromatogramm trotz variierender Messbedingungen lieferte, wurde sie sowohl bei den Proben aus dem Volksgarten sowie bei den Messungen des Schokoladen- und Lebkuchenaromas angewendet.

Im Vorfeld zu den eigentlichen Untersuchungen erwiesen sich verschiedenste Messungen kürzerer Probenahmedauer wie etwa mehrere einstündige Messungen des Fliederblütenduftes im Freien oder mehrstündige Messungen von in Vials isolierten Rosenblüten als nützlich für einen erfolgreichen Messablauf und ein bestmögliches Auswerten der Chromatogramme. Da die identifizierten Verbindungen einen Großteil der aus der jeweiligen Literatur bekannten Duft- bzw. Aromastoffe repräsentierten, konnte festgestellt werden, dass die verwendete Methode mit Sicherheit das jeweilige Spektrum an Duftstoffen/Aromastoffen abzudecken im Stande war.

### 3.4 Analytische Bedingungen

#### Probenahme:

SPME:	Portable Field Sampler (Artikelnr. 534831), SUPELCO (Sigma-Aldrich®); Faserbeschichtung: Carboxen/ Polydimethylsiloxan (PDMS); Dicke: 75 µm; Länge: 1 cm
Ausheizzeit im Injektor:	2 min Desorption time (T)
Splitratio:	splitless

#### Gaschromatographie:

Gerät:	Trace GC Ultra (Thermo Electron Corporation)
Trärgas:	UN1046 Helium, verdichtet
Trärgasgeschwindigkeit:	1 ml/min; Flow Mode: constant flow
Trennsäule:	60 m (TR-5MS GC Column; Artikelnr. 260F154P); Innendurchmesser: 0.25 mm ID; Filmdicke: 0.25 µm
Injektorsystem:	split/splitless Injektor; Temperatur: 250 °C; ausgestattet mit Inlet-Liner für SPME; 0.75 mmID (Thermo Artikelnr. 45352083, SUPELCO)

#### Temperaturprogramm:

Ausgangstemperatur:	40 °C (2 min konstant gehalten )
Aufheizrate:	3 °C/min bis 250 °C
Gesamtdauer:	55.33 min
Maximale Temperatur:	350 °C

#### Massenspektrometer:

Gerät:	DSQ II (Thermo Electron Corporation), direkte Kopplung
Transferline-Temperatur:	250 °C
Ionenquelle:	200 °C
Elektronenenergie:	electron impact (EI)-mode 70 eV
Scan-Bereich:	40-400 amu/0.35 sec; Full scan; Total Ion Current (TIC)

### 3.5 Auswertung der GC-MS-Chromatogramme

Die elektronische Datenerfassung und Auswertung der Chromatogramme wurde mit der Software Xcalibur des GC-MS-Herstellers Thermo Electron Corporation durchgeführt. Folgende Spektrenbibliotheken ermöglichten die Analyse und den Vergleich der erhaltenen Massenspektren:

- US national Institute of Standards and Technology (NIST)/EPA/NIH Mass Spectral Library : MS Search 2.0d (match factors > 850)
- Wiley Registry of Mass Spectral Data, 8th Edition

Die von den beiden Datenbanken für einen bestimmten Peak vorgeschlagenen Verbindungen werden nach ihrer Wahrscheinlichkeit, bei einer bestimmten Retentionszeit aufzutreten, d.h. also nach ihrer Übereinstimmung gereiht. Diese Wahrscheinlichkeit dient als Hilfestellung bei der Analyse der Spektren und beim Zuordnen der Substanzen. Weiters sind Informationen über vorhandene Synonyme, die Strukturformel, das Molgewicht, die CAS-Nummer und verfügbare Referenzen für einen Großteil der Substanzen enthalten.

Diese zwei Datenbanken können jedoch nur zu einer annähernd qualitativen Aussage über vorhandene Verbindungen führen. Trotzdem unterstützten und vereinfachten sie bei den Auswertungen mit der Software Xcalibur die Identifizierung jedes einzelnen Peaks.

## 4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Nach der GC-MS-Auftrennung und der Auswertung der verschiedenen Chromatogramme zeigte sich bei allen Messungen, dass die Proben mit sechsstündiger Messdauer *in puncto* Anzahl und relativer Konzentration der identifizierten Verbindungen die genauesten Ergebnisse darstellten. Deshalb werden in dieser Diplomarbeit die sechsstündigen Messungen der jeweiligen Gerüche bzw. Düfte mit Ausnahme bei der Messung des Rosenduftes der Sorte *Duftwolke* (hier beträgt die Dauer eine bzw. 18 Stunden) als Repräsentanten der jeweiligen Messreihe dargestellt und diskutiert. Als Messreihe bzw. -serie wird die Probenahme mittels drei verschiedener SPME-Sampler am selben Standort, zur gleichen Zeit und unter gleichen Bedingungen, jedoch mit unterschiedlicher Messdauer bezeichnet.

Die Ergebnisse aus den zwei- und vierstündigen Messungen – die in dieser Diplomarbeit nicht enthalten sind – wurden wie die sechsstündigen Untersuchungen ausgewertet. Sie dienen als Vergleich bzw. Kontrolle, ob die identifizierten Substanzen aus den einzelnen Messungen einer Messserie auch wirklich übereinstimmen: Die Verbindungen, die in allen Auswertungen der Messungen aus derselben Serie vorhanden sind, sollten demnach in etwa die gleichen Retentionszeiten besitzen. Man erhielt also mit diesen dreiteiligen Messserien eine zusätzliche Möglichkeit, die Auswertungen der Chromatogramme gegenseitig zu vergleichen und somit auf eventuelle Fehlerquellen zu prüfen.



## 4.1 Gerüche der Manner-AG

### 4.1.1 Ergebnisse der sechsstündigen Messung des Schokoladenaromas während des Conchierens

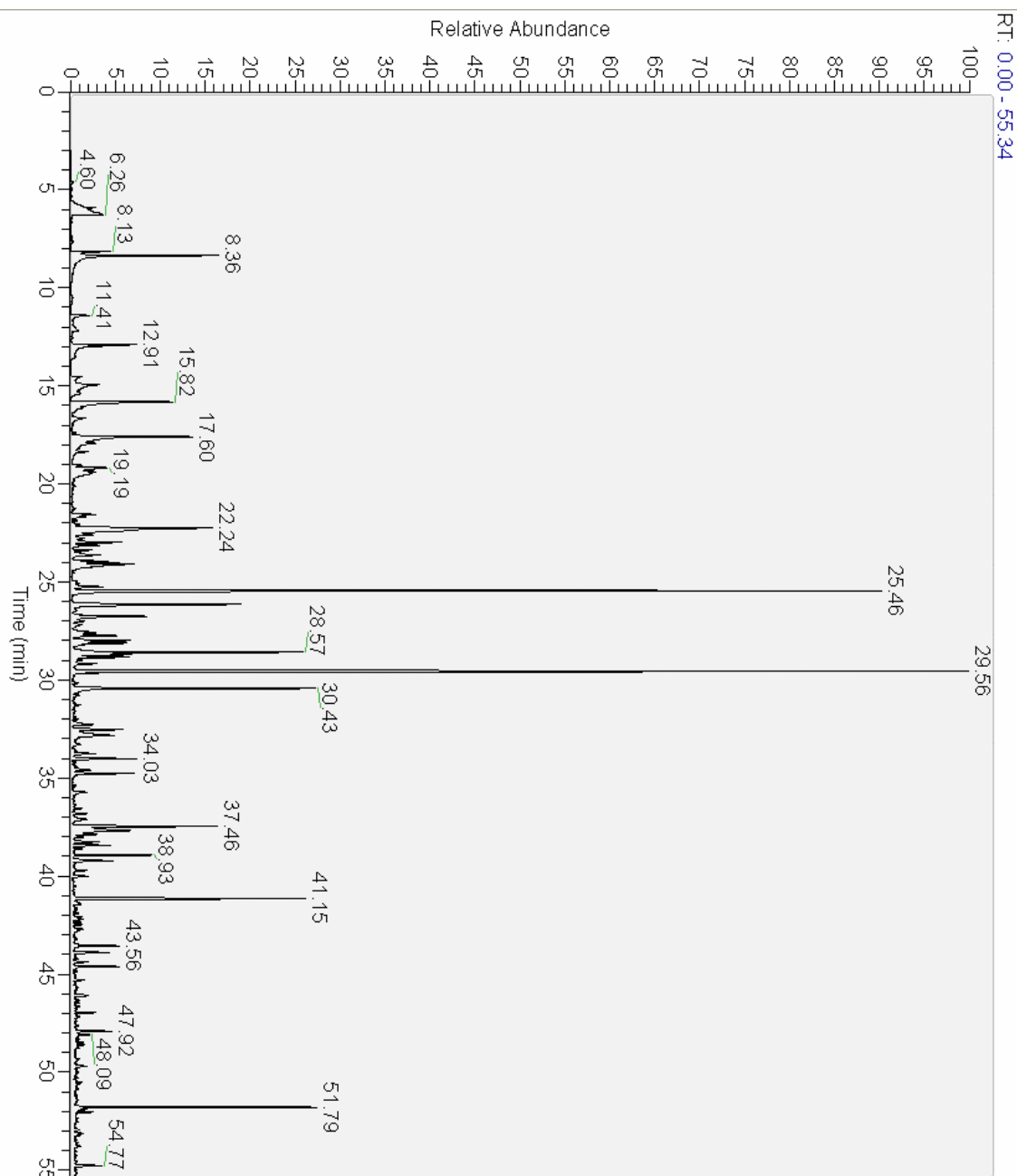


Abb. 9: Chromatogramm des Schokoladenaromas

Auswertung des Chromatogrammes der sechsstündigen Messung bei Conche:

RT	Flüchtige Verbindung
6.23	Essigsäure
7.33	Butanal, 3-Methyl-
7.45	Benzol
7.55	Ameisensäure, Butyl Ester
10.60	Propansäure, 2-Methyl-
10.80	1H-Pyrrol
11.13	2-Butenal, 3-Methyl-
11.41	Toluol
12.15	Butansäure
12.74	2,3-Butanediol
12.98	Hexenal
13.52	Essigsäure, Butyl Ester
14.52	Methyl-Pyrazin
14.92	Furfural (2-Furancarbaldehyd)
15.82	2-Furylmethanol (Furfurylalkohol)
16.63	p-Xylol
16.73	m-Xylol
17.00	Pentansäure
17.94	Ameisensäure, 2-Phenylethyl Ester
18.35	Heptanal
19.18	Pyrazin, 2,5-Dimethyl-
19.49	Pyrazin, 2,3-Dimethyl-
20.51	Pentansäure, 4-Methyl-
21.27	Benzol, Propyl
21.68	Benzol, 1-Ethyl-3-Methyl-
22.24	Benzaldehyd
22.60	Trisulfid, Dimethyl-
22.78	Phenol
22.97	$\beta$ -Myrcen
23.13	Furan, 2-Pentyl-
23.62	Mesitylen

23.63	Pseudocumen
24.00	Octanal
24.25	$\alpha$ -Terpinen
25.00	1H-Pyrrol-2-Carboxaldehyd
25.46	(+)-Limonen
26.14	Benzylalkohol
26.76	$\alpha$ -Tolualdehyd
27.01	1,2,3,5-Tetramethyl Benzol
27.52	Benzylmethanol, $\alpha$ -Methyl-
27.61	1-Octanol
27.74	Ethanol, 1-(1H-Pyrrol-2-yl)-
27.98	Acetophenon
28.13	Pyrazin, 2-Ethyl-3,5-dimethyl-
28.70	2-Nonanon
29.02	p-Cymenol
29.56	Nonanal
30.43	$\beta$ -Phenylethanol
30.79	1-(6-Methyl-2-pyrazinyl)1-Ethanon
32.28	2-Methyl-p-anisaldehyd
32.52	p-Acetotoluol
32.85	Octansäure
33.30	Benzoessäure, Ethyl Ester
34.45	Pyrazin, 2,5-Dimethyl-3-(2-methylpropyl)-
34.60	$\alpha$ -Terpineol
34.76	Decanal (Capraldehyd)
34.88	2-Methyl-5H-6,7-dihydrocyclopentapyrazin
35.37	Pentansäure, 3-Methyl-ethyl-Ester
35.73	$\beta$ -Citronellol
37.46	Essigsäure, 2-Phenylethyl Ester

37.68	<b>Nonansäure (Pelargonsäure)</b>	44.21	Eugenol Methyl Ether
39.23	Limonen Dioxid	44.61	<b>Vanillaldehyd/Vanillin</b>
40.02	<b>5-Isopentyl-2,3-dimethylpyrazin</b>	48.50	Isoeugenol Methyl Ether
40.83	<b>Methylnaphthalin</b>	48.60	$\alpha$ -Muurolen
41.75	<b>5-Pentyl-2(5H)-furanon</b>	49.33	$\gamma$ -Cadinen
42.10	<b>Decansäure</b>	49.41	(+)- $\delta$ -Cadinen
42.70	<b><math>\gamma</math>-Nonalacton (Kokosnussaldehyd)</b>	49.70	(-)-Calamenen
43.49	<b>Decansäure, Ethyl-Ester</b>	52.05	Hexadecan

Tab. 5: Auswertung der Messung im Manner-Concheraum

#### 4.1.1.1 Diskussion der Ergebnisse der sechsstündigen Messung des Schokoladenaromas

Wenn man die verschiedenen Aromabestandteile der Schokolade, die hier aufgereiht sind, mit jenen aus der Liste über flüchtige, geruchsaktive Verbindungen von Kakao des TNO Nutrition and Food Research Institute [NISSJEN et al., 1996] vergleicht, findet man viele der Substanzen im Chromatogramm wieder. Die in der Tabelle fett geschriebenen Verbindungen werden ausdrücklich in der aus vielen Quellen zusammengetragenen Liste oder in anderer Fachliteratur erwähnt. Neben vielen flüchtigen Kohlenwasserstoffen, wie Toluol, Xylol und verschiedenen Benzolen, findet man auch eine große Anzahl an Säuren, Alkoholen, aber auch einige Ester und Ketone.

Durch den Röstprozess des Kakaos werden diese Aroma-Precursor über Maillard-Reaktionen in zwei Hauptklassen von aromaaktiven Substanzen umgebaut: nämlich in Pyrazine und Aldehyde [COUNET et al., 2002]. Gleich mehrere solcher Substanzen können als wichtige Bestandteile des Aromas von Schokolade identifiziert werden:

- 3-Methylbutanal wird von Ducki et al. (2008) als Schlüsselverbindung des Geruchs dunkler Schokolade beschrieben. Zusammen mit 2-Phenylacetaldehyd wird das Strecker-Aldehyd auch von Schnermann und Schieberle (1997) als wichtiger Aromabestandteil des Kakaos mit malzigem Geruch angegeben.
- Der Verbindung 2,5-Dimethylpyrazin wird ein Geruch nach „reinem“ Kakao zugeschrieben.

- Methylpyrazin, 2,3-Dimethylpyrazin und Benzaldehyd machen die Haselnuss-/Mandelnote des Aromaprofils von Schokolade aus.
- 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazin ist u.a. für die typische Röstnote des Kakaos verantwortlich [DUCKI et al., 2008].
- 2-Ethyl-2,5-dimethylpyrazin weist einen Geruch nach Kartoffelchips auf [SCHNERMANN und SCHIEBERLE, 1997].

3-Methylbutanal und 2-Ethyl-2,5-dimethylpyrazin besitzen in der Studie von Schnermann und Schieberle (1997) die höchsten Flavour-Dilution-Faktoren, welche direkt proportional zum Aromawert stehen. Methyl-Pyrazin, 2,5-Dimethylpyrazin und 2,3-Dimethylpyrazin werden u.a. auch von Perego et al. (2004) in deren Studie über Methylpyrazine in geröstetem Kakao erwähnt. Sie zeigen gleichzeitig einen Trend zwischen der Gesamtkonzentration an Pyrazinen in Kakao und der dadurch bedingten positiven Aromaentwicklung auf [PEREGO et al., 2004]. In der Studie von Counet et al. (2002) identifizieren die Autoren ebendiese durch die Maillard-Reaktion entstandenen Verbindungen nach dem Conchieren in dunkler Schokolade, was darauf hindeutet, dass diese Aromastoffe während der Kakaoverarbeitung entstanden sind.

Essigsäure, die mit 6.23 min eine sehr kurze Retentionszeit aufweist, wird zwar nicht als sehr wichtige Verbindung des Schokoladenaromas erwähnt, trägt aber mit ihrer adstringierenden „Essignote“ sehr wohl zum Aromagesamtbild bei [AFOAKWA et al., 2009].

Der hohe Peak bei einer Retentionszeit von 12.91 min, der sich übrigens in jedem der ausgewerteten Chromatogramme befindet, lässt sich wahrscheinlich auf ein Säulenbluten oder auf Verunreinigungen durch kleinste Absplitterungen der SPME-Faser im Inlet des GC-Gerätes zurückführen. Es handelt sich hierbei um Hexamethyltrisiloxan, eine Siliciumverbindung, die sowohl von der Trägersäule des GC-Gerätes als auch von der Beschichtung der SPME-Faser stammen kann.

Hexanal tritt bei einer Retentionszeit von 12.98 min auf und ist für die grüne Note des Kakaos bzw. der Schokolade verantwortlich [SCHNERMANN und SCHIEBERLE, 1997].

Die kurz nacheinander folgenden Verbindungen Furfural und Furfurylalkohol, mit den Peaks bei den Retentionszeiten 14.92 und 15.82 min, stellen wahrscheinlich Derivate aus der Strecker-Degradation und von Karamellisierungsreaktionen dar, die während der Verarbeitung ablaufen und während der Aromasynthese in den Conches transformiert werden. Sie weisen beide einen karamellähnlichen, süßen und honigartigen Geruch auf [AFOAKWA et al., 2009].

In den Ergebnissen von Serra Bonvehí (2005), der die chemische Zusammensetzung und Sensorik von fünf Kakaobohnensorten mit verschiedenem geographischen Ursprung untersuchte, scheint auf, dass u.a. die hier gefundenen Verbindungen Benzaldehyd, Ethylphenylacetat und Acetophenon zumindest aufgrund der Konzentration ( $> 1.30 \text{ mg/kg}$ ) zu den Hauptgeruchsbestandteilen des Kakaopulvers zählen. Als sensorische Merkmale kann man dem Benzaldehyd einen Geruch nach Bittermandel, dem Ethylphenylacetat eine honigsüße Note und dem Acetophenon einen blumigen, mandelartig-süßen Charakter zuschreiben [SERRA BONVEHÍ, 2005].

Bei 22.60 min lässt sich ein Peak als Dimethyl-Trisulfid identifizieren. Diese Substanz mit schwefeligem, zwiebelartigem Geruch kommt auch in der Liste der Schlüsselverbindungen fürs Milchsokoladen-Aroma von Schnermann und Schieberle (1997) und in der über die Aromastoffe dunkler Schokolade von Counet et al. (2002) vor. Es handelt sich um die einzige vorfindbare Sulfidverbindung im Chromatogramm.

Interessant ist auch die bei 25.00 min auftretende Substanz 1H-Pyrrol-2-Carboxaldehyd. Sie wird in den beiden Studien von Counet et al. (2002) und von Ducki et al. (2008) ebenfalls zum Kakao- bzw. Schokoladenaroma gezählt, nicht jedoch in der Liste von Nissjen et al. (1996) erwähnt. Der Grund liegt bei der verwendeten Methode: Ducki et al. verwendeten zur Probenahme ähnliche, PDMS-beschichtete SPME-Fasern mit anschließender GC-MS-Auftrennung, wie im Rahmen dieser Diplomarbeit. Ebenfalls nicht in der Liste von Nissjen et al. (1996) befindet sich das Aldehyd Heptanal, das hier bei 18.35 min nachweisbar ist. Es wurde jedoch in Untersuchungen dunkler Schokolade

während des Conchierprozesses identifiziert und kann somit mit einiger Sicherheit auch dem Schokoladenaroma zugeordnet werden [DUCKI et al., 2008].

Nach 30.43 min erscheint 2-Phenylethanol, der den vorherrschenden Alkohol in dunkler Schokolade darstellt. Dieser Alkohol, der auch im Rosenduft vorkommt, verleiht der Schokolade ihre typisch blumige Note [COUNET et al., 2002].

Beim Schokoladenaroma gibt es also nicht nur einige Charakter-Impact-Verbindungen, sondern viele verschiedene Bestandteile, die zusammen das typische Aroma ergeben. In der Literatur wird allgemein von mehr als 500 Komponenten gesprochen, wobei neuere Forschungen die Anzahl der identifizierten Aromastoffe immer höher ansteigen lassen [DUCKI et al., 2008]. Es ist jedoch sehr schwierig herauszufinden, welche Komponenten wirklich wichtig sind und welche nicht. Nicht alle Substanzen, die identifiziert werden, können als signifikante Aromabestandteile angesehen werden, weil das Impact-Aroma von der Konzentration und der Intensität abhängig ist [SERRA BONVEHÍ, 2005].

Verschiedenes muss bei diesen Ergebnissen berücksichtigt werden: erstens fanden die Messungen während des Conchierprozesses der Schokolade statt, was andere Aromastoffe freisetzt wie z.B. das Rösten der Kakaobohnen; und zweitens – es wurde Raumluft mit den SPME-Samplern untersucht – also keine Vials unter Luftabschluss, wie es in anderen Studien, die die Headspace-SPME-Methode anwenden, üblich ist. Die Verteilung des flüchtigen Schokoladenaromas im weitläufigen „Conchier-Raum“ der Manner AG hat zur Folge, dass einige Aromastoffe in sehr geringen Konzentrationen in der Luft vorhanden bzw. verteilt sind; d.h. ihre Konzentration ist zu gering, um im Chromatogramm auffindbar zu sein. Deshalb findet man wahrscheinlich nicht das ganze Spektrum an Schokoladenaroma-Komponenten in den Auswertungen der Raumluft wieder.

#### 4.1.2 Ergebnisse der sechsstündigen Messung des „Lebkuchenduftes“

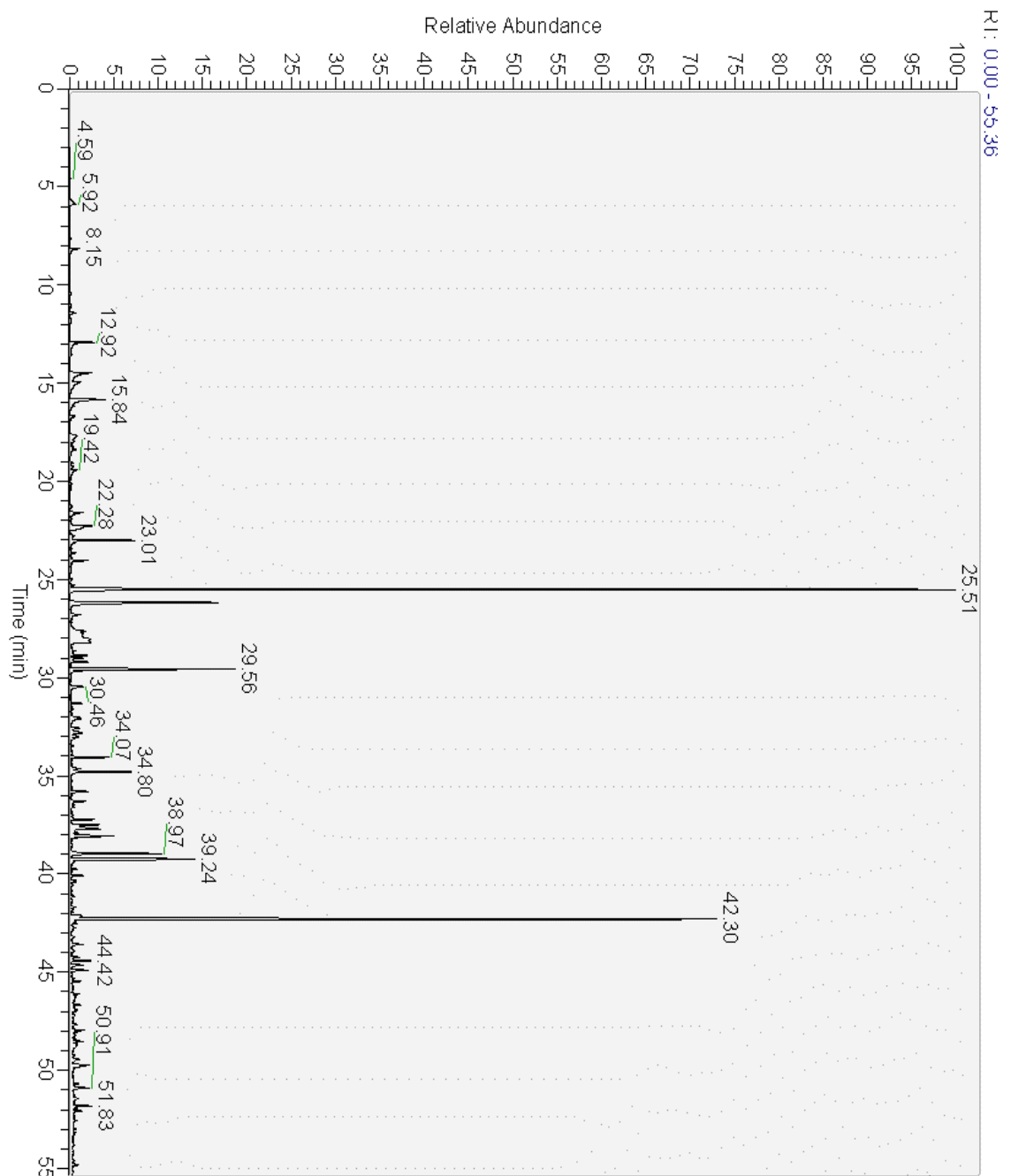


Abb. 10: Chromatogramm des Lebkuchenaromas

Auswertung des sechsstündigen „Lebkuchen-Chromatogramms“:

RT	Substanz		
4.63	2-Amino-2-methyl, Propan-1-ol	24.03	<b>Octanal</b>
5.91	Ameisensäure, Methyl Ester	24.28	Benzaldehyd, 4-Hydroxy-
6.20	Essigsäure, Ethyl Ester	25.29	$\beta$ -Cymen
9.01	2-Propansäure, 2-Methyl-	25.51	<b>(+)-Limonen</b>
10.48	Pyrazin	26.17	<b>Benzylalkohol</b>
11.43	<b>Toluol</b>	26.79	<b>Phenylethanal</b>
11.73	Propansäure	27.05	<b><math>\tau</math>-Terpinen</b>
12.56	Octan	27.63	<b>Octanol</b>
14.45	<b>Pyrazin, Methyl-</b>	28.17	2,4-Hexadiensäure
14.95	<b>Furfural (2-Furancarbaldehyd)</b>	28.56	<b><math>\alpha</math>-Terpinol</b>
15.84	<b>Furfurylalkohol (2-Furanmethanol)</b>	28.66	Undecan
16.66	p-Xylol	29.00	1-Methyl-4-(1-methylethenyl) Benzol
16.74	o-Xylol	29.20	<b>(+)-Linalool</b>
16.88	<b>Hexansäure</b>	29.56	<b>Nonanal</b>
17.10	<b>Pentansäure</b>	29.93	Hexansäure, 2-Ethyl
17.82	Cyclopent-2-en, 1,4-Dion	31.30	Ethanon, 1-(4-Methyl-3-cyclohexen-1-yl)
17.95	m-Xylol	31.51	<b>trans-Limonen Oxid</b>
18.13	4-Methylen-5-hexanal	32.01	<b>2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on</b>
18.25	Dihydroxyaceton	32.58	4-Acetyltoluol
18.38	<b>(Z)-Cinnamid</b>	32.83	<b>Octansäure</b>
20.45	Pyrazin, Ethenyl-	33.81	Ethanol, 2-(2-Butoxyethoxy)-
21.30	Propylbenzol	33.87	<b>(-)-Terpinen-4-ol</b>
21.90	Cumol	34.06	Dodecan
22.09	2-Furancarboxaldehyd, -5-Methyl	34.60	<b><math>\alpha</math>-Terpineol</b>
22.29	<b>Benzaldehyd</b>	34.80	<b>Decanal</b>
23.01	<b><math>\beta</math>-Myrcen</b>	35.24	Dihydro-Carvon
23.16	<b>Furan, 2-Pentyl-</b>	35.59	2,4-Nonadienal
23.40	Decan	35.81	<b><math>\alpha</math>-Carveol</b>
23.54	Benzonitril	35.98	2-Phenoxyethanol
23.65	Hemimellitol (Benzol, 1,2,3-trimethyl)	36.29	<b>5-Hydroxymethyl-furfural</b>
23.87	2-Propen-1-ol	36.49	<b>(Z)-Carveol</b>



Fortsetzung der Tabelle

36.53	Benzylpropanol	41.95	<b>Neryl Acetat</b>
36.62	<b><math>\beta</math>-Citral</b>	42.31	<b>1,3,4-Eugenol</b>
36.72	<b>trans-Zimtaldehyd</b>	42.74	$\gamma$ -Nonalacton (Kokosnuss-Aldehyd)
36.97	<b><math>\beta</math>-Geraniol</b>	42.86	<b>Geranyl Acetat</b>
37.12	2-sec-Butylcyclohexan-1-on	43.20	<b><math>\alpha</math>-Copaen</b>
37.22	(-)-(R)-Carvon	43.59	Tetradecan
37.50	Essigsäure, 2-Phenylethyl Ester	43.81	Anisyl Methyl Keton
37.72	<b>Pelargonsäure</b>	43.95	Benzoessäure, Pentyl Ester
38.06	4-Anisaldehyd	43.97	Benzoessäure, Butyl Ester
38.33	Benzen, Ethyl-(1-methylethenyl-)	44.25	<b>1,3,4-Eugenol Methyl Ether</b>
38.46	2-Butenal, 4-Phenyl	44.42	<b>Dodecanal</b>
38.48	Crotonaldehyd, 2-Phenyl	44.65	<b>Isovanillin</b>
38.52	Thymol	46.66	<b>(E)-Isoeugenol</b>
38.66	Cyclohexan, (3-Methylbutyl)-	46.92	<b>Coumarin</b>
38.89	Benzaldehyd, Ethenyl-	47.68	<b><math>\alpha</math>-Curcumen</b>
39.24	p-Anethol	47.96	Pentadecan
39.28	<b>Limonen Dioxid</b>	48.53	<b>Valencen</b>
39.48	3,6-Dimethylbenzofuran-4-ol	48.67	<b><math>\alpha</math>-Muurolen</b>
39.75	<b>Undecanal</b>	48.82	Tridecanal
40.32	2(4H)-Benzofuranon, 5,6,7,7a-Tetrahydro-3-methyl-	49.27	<b>Acetyl Eugenol</b>
40.50	<b>2,4-Decadienal (E,E)</b>	49.46	<b><math>\delta</math>-Cadinen</b>
40.86	Methylnaphthalen	49.73	1-Dodecanol, 2-Methyl (S)
41.02	1,3-Isobenzofurandion	49.81	<b>Myristicin</b>
41.16	1,2,3-Propanetriol, Triacetat	51.44	1-Tridecanol
41.35	trans-3(10)-Caren-2-ol	52.08	Hexadecan
41.38	<b>(E)-Carveol</b>	52.58	<b><math>\beta</math>-Caryophyllen Oxid</b>
41.50	<b><math>\beta</math>-Citronellyl Acetat</b>	52.98	<b>Myristicin Aldehyd</b>
41.80	5-Pentyl-2(5H)-furanon	54.21	(-)- $\delta$ -Cadinol

Tab. 6: Auswertung der Messung im Manner-Backraum (Lebkuchen)

#### **4.1.2.1 Diskussion der Ergebnisse aus der sechsstündigen Messung des Lebkuchenaromas**

Eine besonders große Rolle in der Auswertung spielen die verschiedenen Gewürze im Lebkuchen, die sich traditionellerweise aus Anis, Nelken, Ingwer, Kardamom, Muskatnuss, Piment, Vanille und Zimt zusammensetzen [RITTER, 2003]. Viele der identifizierten Substanzen im Chromatogramm können diesen Lebkuchengewürzen zugeschrieben werden und sind daher fett markiert.

Für das typische Ingweraroma sind Verbindungen verantwortlich wie:  $\beta$ -Myrcen, Octanal,  $\tau$ -Terpinen,  $\alpha$ -Terpinen, (+)-Linalool,  $\alpha$ -Terpineol,  $\beta$ -Geraniol,  $\alpha$ -Copaen, Valencen und  $\alpha$ -Curcumen [YU et al., 2007]. Die von Yu et al. (2007) angegebenen Hauptkomponenten Geranial, Zingiberen,  $\beta$ -Sesquiphellandren und  $\beta$ -Phellandren konnten nicht detektiert werden. Weiters befinden sich bei den GC-MS-Analysen von frischem und trockenem Ingwer von Gong et al. (2004) unter den flüchtigen Verbindungen des Ingwers auch folgende aromaaktive Stoffe: Limonen, Citral, Limonenoxid, Geranylacetat,  $\alpha$ -Muurolen, Acetyeugenol und Isoeugenol. Sie lassen sich auch hier anhand der Datenbanken nachweisen.

Dem Zimtaroma gehören u.a. folgende Substanzen an: (Z)-Cinnamid, (+)-Limonen,  $\alpha$ -Terpinen, (+)-Linalool, trans-Zimt-Aldehyd, 1,3,4-Eugenol,  $\alpha$ -Copaen, (E)-Isoeugenol, Coumarin,  $\delta$ -Cadinen, Acetyl-Eugenol,  $\beta$ -Caryophyllen Oxid [LOPÉZ et al., 2006]. Singh et al. (2007) zählen auch das  $\alpha$ -Muurolen, das hier bei einer Retentionszeit von 48.67 min auftritt, zu den Bestandteilen des flüchtigen Öls der Zimtrinde.

Im Muskatnussaroma enthaltene Verbindungen sind u.a.  $\beta$ -Myrcen,  $\alpha$ -Terpinol, Limonen, Linalool,  $\alpha$ -Terpineol, Citronellylacetat, Geranylacetat,  $\beta$ -Citronellol,  $\alpha$ -Copaen, Isoeugenol und Myristicin [CHOO et al., 1999]. Außerdem findet man bei einer Retentionszeit von 52.98 min Myristicinaldehyd, das auch der Muskatnuss angehört.

Dem Nelkenaroma kann man, neben den Hauptbestandteilen Acetyeugenol und 1,3,4-Eugenol, viele andere Verbindungen zuordnen, wie etwa Benzaldehyd, Benzylalkohol, (E)-Isoeugenol und 1,3,4-Eugenol-Methyl-Ether [LEE und

SHIBAMOTO, 2001]. Auch Furfural ist – als ein allgemeiner Bestandteil einiger Pflanzenöle – im Öl von Gewürznelken vorhanden. Wenqiang et al. vergleichen in ihrer Studie von 2007 die Inhaltsstoffe von essentiellen Nelkenölen, die mit verschiedenen Extraktionsmethoden gewonnen wurden. So kann man unter den aufgelisteten Bestandteilen auch  $\alpha$ -Copaen,  $\alpha$ -Muurolen, Cadinen und  $\beta$ -Caryophyllenoxid entdecken [WENQIANG et al., 2007], die – wie schon zuvor beschrieben – auch in dieser Auswertung aufscheinen und als aromaaktive Inhaltsstoffe in mehreren Gewürzen gleichzeitig vorkommen.

Außerdem werden traditionellerweise auch Zitronat und Orangeat, darunter versteht man kandierte Zitruschalen, im Lebkuchengebäck verwendet. Dementsprechend findet man im Chromatogramm einige Substanzen, die im Öl von Zitronenschalen vorhanden sind: z.b. (+)-Limonen,  $\beta$ -Myrcen, Nonanal, Linalool,  $\gamma$ -Terpinol, Benzylalkohol,  $\beta$ -Geraniol, Neryl Acetat, Geranyl Acetat,  $\beta$ -Citronellyl Acetat und Valencen [BOUSBIA et al., 2009]. In den Studien von Nguyen et al. (2009), in denen flüchtige Verbindungen von Zitronenöl untersucht wurden, werden auch (Z)-Carveol, (E)-Carveol, (Z)- und (E)-Limonen Oxid, Octanal, Nonanal, Octansäure, Caryophyllen Oxid und  $\beta$ -Citral genannt, die hier ebenfalls detektiert werden können.

Man bemerkt, dass sich die beschriebenen aromaaktiven Inhaltsstoffe in den verschiedenen Gewürzen sehr ähneln, bzw. teilweise die gleichen Verbindungen in den unterschiedlichen Gewürzen vorzufinden sind. Dabei muss beachtet werden, dass erst das Zusammenspiel einzelner Komponenten in verschiedenen Konzentrationen zum schlussendlichen Aromaeindruck des jeweiligen Gewürzes führt.

Neben den Aromastoffen der Gewürze findet man natürlich auch Verbindungen, die beim Backen der Lebkuchenkekse entstehen. Der Backprozess bei Getreideprodukten führt zu neuen flüchtigen Verbindungen, die Ergebnisse der Maillard-Reaktion sind und eine große Rolle beim Aroma des endgültigen Produkts spielen [REGA et al., 2009].

Im Chromatogramm wurden gleich mehrere Aromabestandteile identifiziert, die ebenfalls von REGA et al. (2009) beim Backen eines „Muster-Biskuitkuchens“ mittels HS-SPME nachgewiesen werden konnten:

- 2-Pentylfuran
- 2-Methylpyrazin
- Octanol
- Octanal
- Nonanal
- Furfural
- Furfurylalkohol
- Decanal
- Octansäure
- Pelargonsäure
- 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-on
- 5-Hydroxymethylfurfural
- Benzaldehyd
- Undecanal
- Phenylethanal
- Dodecanal
- 2-Undecenal
- (E,E)-2,4-Decadienal
- Hexansäure

2-Pentylfuran wurde auch schon unter den Degradationsprodukten der Linolsäure gefunden und ist für „fettige“, aber auch fruchtige Gerüche verantwortlich. Erwähnenswert ist weiters 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-on; diese Verbindung stellt ein Maillard-Reaktionsprodukt dar und fungiert als Precursor von Maltol. Außerdem ist es ein typischer Marker für den 2,3-Enolisationsweg in der Maillard-Reaktion [REGA et al., 2009].

Bei einer Retentionszeit von 44.65 min scheint Isovanillin auf, das noch von der Auswertung des Schokoladenduftes in Erinnerung sein sollte und auf die Verwendung von Vanillin hindeutet.

In diesem Chromatogramm befindet sich bei einer Retentionszeit von 12.91 min ein Peak mit der Verbindung Hexamethyltrisiloxan, der – wie schon bei der Schokoladeprobe erwähnt – auf etwaige Verunreinigungen der Säule oder auf eine Absplitterung der SPME-Faserbeschichtung schließen lässt.



Abb. 11: Lebkuchenlaufband nach Backprozess [FEUERSTEIN, 2008]

#### 4.1.3 Ergebnisse aus der sechsstündigen Freiluftmessung im Manner-Innenhof

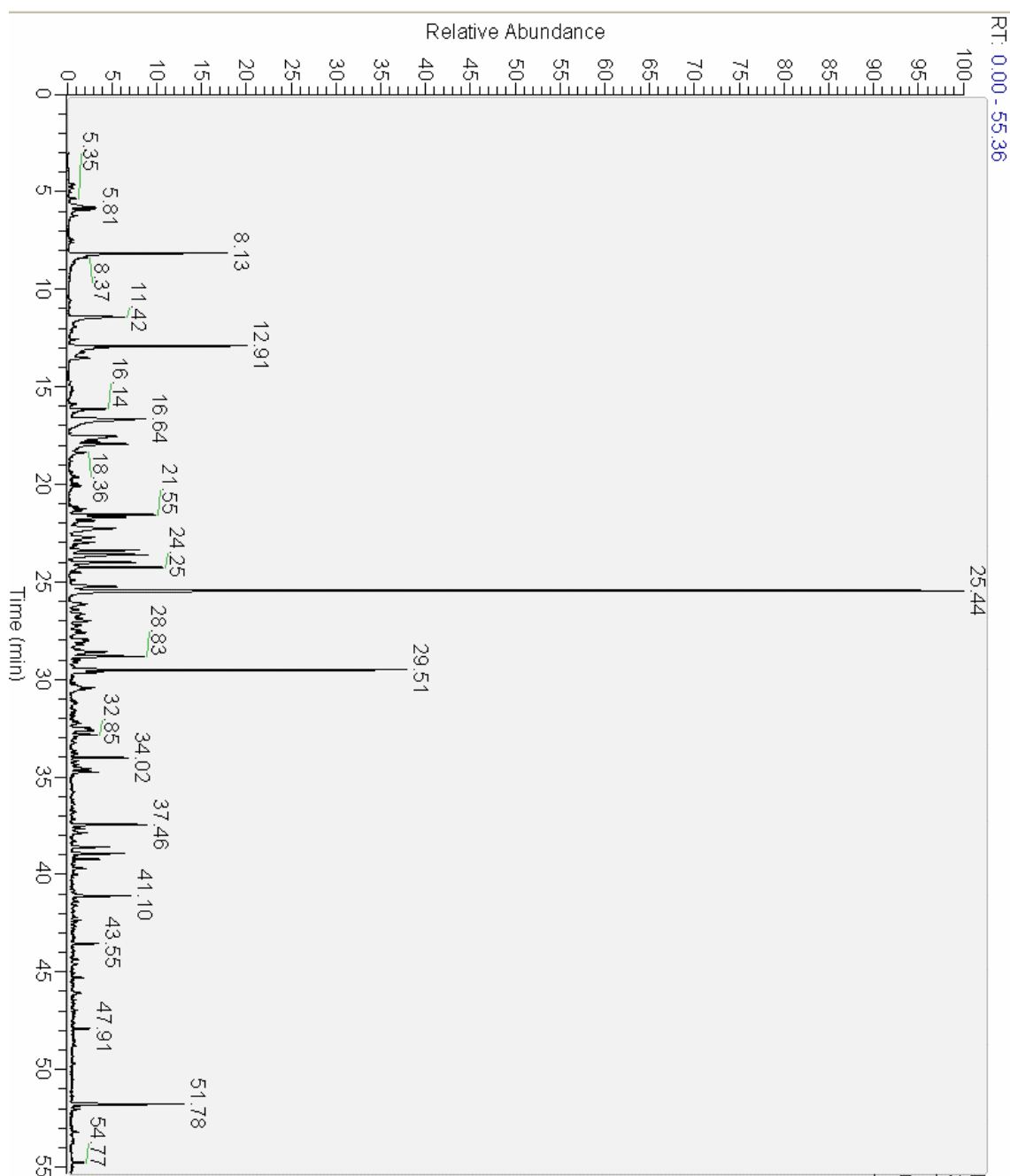


Abb. 12: Chromatogramm der Messung im Manner-Innenhof

### Auswertung der "Manner-Innenhof"-Messung

RT	Flüchtige Verbindung
5.81	<b>Ameisensäure, Methyl Ester</b>
5.92	2-Butanon
6.18	Furan, 2-Methyl-
6.22	<b>Essigsäure, Ethyl Ester</b>
7.33	Hexan, 2-Methyl-
7.36	Butanal, 3-Methyl-
7.46	<b>Benzol</b>
7.60	Hexan, 3-Methyl-
8.38	Heptan
10.56	2-Propanol, 1-Ethoxy-
10.59	2-Propanol, 1-(1-Methyl- ethoxy)-
10.93	Heptan, 2-Methyl-
11.29	Heptan, 3-Methyl-
11.42	<b>Toluol</b>
11.92	<b>Butansäure</b>
12.56	<b>Octan</b>
13.01	<b>Hexanal</b>
13.52	<b>Essigsäure, Butyl Ester</b>
14.74	Butansäure, 3-Methyl-
14.98	<b>2-Furancarboxaldehyd</b>
15.89	<b>Furfurylalkohol</b>
16.14	Benzol, Ethyl-
16.64	<b>p-Xylen</b>
16.70	<b>o-Xylen</b>
17.81	Nonan
17.93	<b>m-Xylen</b>
18.36	<b>Heptanal</b>
18.82	Essigsäure, Pentyl Ester
19.64	Octan, 2,6-Dimethyl-

19.85	Cyclohexan, Propyl-
19.97	(+)-2-Caren
21.18	Nonan, 4-Methyl-
21.36	Nonan, 2-Methyl-
21.68	Benzol, 1-Ethyl-2-methyl-
21.94	4-Heptanon, 2,6-Dimethyl-
22.17	<b>Hemimellitol</b>
22.36	<b>Benzaldehyd</b>
22.75	2(3H)Furanon, Dihydro-5- methyl-5-phenyl
22.85	<b>Phenol</b>
22.97	<b>β-Myrcen</b>
23.11	<b>Furan, 2-Pentyl-</b>
23.37	<b>Decan</b>
23.61	<b>Mesitylen</b>
24.00	<b>Octanal</b>
24.24	(+)-3-Caren
24.52	Decan, 4-Methyl-
24.93	β-Cymen
25.24	p-Xylen, α,α-Dimethyl-
25.44	<b>(+)-R-Limonen</b>
26.07	1H-Inden, 2,3-Dihydro-
26.13	α-Toluenol
26.42	Heptan, 4-Ethyl-
26.50	α-Cumyl Peroxid
26.65	(1R,2S)-(-)-1-Phenyl-1,2-epo- xypropan
26.75	<b>α-Tolualdehyd</b>
26.88	Decan, 2-Methyl-
27.00	p-Xylen, 2-Ethyl-
27.22	Nonan, 5-(2-Methylpropyl)-

27.23	Decan, 3-Methyl-
27.33	1,5-Cyclohexadien-1-ol Acetat
27.59	<b>1-Octanol</b>
27.76	<b>Ethanon, 1-(1H-Pyrrol-2-yl)</b>
27.98	Methyl Phenyl Keton
28.02	Dicumyl Peroxid
28.03	Benzol, 1,3-Diethyl-
28.21	m-Cymen
28.22	p-Cymen
28.24	o-Cymen
28.43	2-Propensäure, 2-Methyl - tetradecyl Ester
28.59	Tetramethyl-pyrazin
28.68	Pyrazin, 5-Ethyl-2,3-dimethyl
28.83	<b>Undecan</b>
29.00	$\alpha$ ,4-Dimethylstyren
29.15	<b><math>\beta</math>-Linalool</b>
29.51	<b>Nonanal</b>
29.72	<b>Hexansäure, 2-Ethyl-</b>
30.18	Undecan, 4-Methyl-
30.42	<b>2-Phenylethanol</b>
30.51	Prehnitol
31.09	Cyclohexan, Pentyl-
31.20	4-(2-Furanyl)-2-butanon
31.59	Nicotinnitril, 1,2-Dihydro-4,6- dimethyl-2-oxo
32.15	Undecane, 2-Methyl-
32.51	4-Acetyltoluol
32.60	<b>Octansäure</b>
32.85	Sabinen-Keton

32.98	2-Camphenilon
33.79	Cumin Alkohol
34.02	<b>Dodecan</b>
34.19	Benzol, Ethyl-(1-Methylethe- nyl)-
34.38	1(3H)-Isobenzofuranon, 3- Methyl-
34.54	Naphthalin
34.76	<b>Decanal</b>
37.46	<b>Essigsäure, 2-Phenyl- ethylester</b>
37.66	2-Decanal, (E)-
38.60	3,4,8-Trimethyl-2-nonenal
38.92	Tridecan
39.21	<b>Limonen Dioxid</b>
39.70	<b>Undecanal</b>
40.83	<b>Methylnaphthalin</b>
41.10	1,2,3-Propanetriol, Triacetat
42.35	Phytan
42.68	<b>(2(3H)-Furanon, Dihydro-5- pentyl) Kokosnuss Aldehyd</b>
43.55	Tetradecan
43.91	Benzoessäure, 2-Methylester-
44.37	<b>Tetradecanal</b>
44.59	Benzaldehyd, 4,5-Dihydroxy- 2-methyl-
44.62	<b>Isovanillin</b>
46.09	Docosan
47.91	<b>Pentadecan</b>
49.69	<b>Calamenen</b>
52.03	<b>Hexadecan</b>

Tab. 7: Auswertung der Messung der Manner-Außenluft

#### 4.1.3.1 Diskussion der Ergebnisse aus der sechsstündigen Messung im Manner-Innenhof

Die Ergebnisse der "Außenluft-Analyse" vor der Manner-Fabrik sollten u.a. auch diejenigen Aromastoffe beinhalten, die aus den Produktionsstätten, in welchen zur Zeit der Messungen Schokolade und Lebkuchen hergestellt wurden, den Weg ins Freie fanden und für den dort wahrnehmbaren Geruch verantwortlich waren. Die in obiger Tabelle fett abgedruckten Verbindungen konnten in den Chromatogrammen aus den Messungen des Schokoladen- und/oder Lebkuchenaromas nachgewiesen und so einem der beiden Gerüche zugeordnet werden.



Abb. 13: Dreiteilige Messreihe im Freien vor der Manner-Fabrik [FEUERSTEIN, 2008]

Sehr auffällig sind die zwei hohen Peaks bei 25.44 und 29.51 min. Dabei handelt es sich – laut verwendeten Datenbanken – um die zwei Aromastoffe (+)-Limonen und Nonanal. Aus Tabelle 8 kann entnommen werden, dass diese zwei geruchsaktiven Verbindungen sowohl im Schokoladen- als auch im Lebkuchenaroma präsent sind. Limonen stellt einerseits in der „Lebkuchen-Messung“ und im „Außenluft-Chromatogramm“ mit Abstand den höchsten Peak dar, ist jedoch zusätzlich im Chromatogramm vom Schokoladenaroma als zweithöchster Peak vertreten. Eine genaue Zuordnung zum Schokoladen- oder Lebkuchenaroma kann daher nicht vorgenommen werden. Das gilt auch für Nonanal: Diese Verbindung ist der markanteste Peak im Chromatogramm vom Schokoladenaroma, kommt aber auch in der Messung im Lebkuchenbackraum vor.



#### 4.1.4 Vergleich der "Manner-Auswertungen" untereinander

Um einen Vergleich der Ergebnisse aus der dreiteiligen Messserie der verschiedenen Standorte auf dem „Manner-Areal“ untereinander zu vereinfachen, werden in Tabelle 8 die identifizierten Aromastoffe aus den drei Messungen gegenübergestellt.

Interessant dabei sind die geruchsaktiven Verbindungen, die sowohl im Schokoladen- und Lebkuchenaroma als auch in der Außenluft detektiert werden konnten. Dazu zählen:

- |                   |                       |
|-------------------|-----------------------|
| • (+)-Limonen     | • Octanal             |
| • Benzaldehyd     | • Octanol             |
| • Decanal         | • Octansäure          |
| • Furfural        | • Toluol              |
| • „Kokos-Aldehyd“ | • $\beta$ -Myrcen     |
| • m- und p-Xylol  | • 2-Pentyl-furan      |
| • Nonanal         | • 2-Phenylethylacetat |

Identifizierte Aromastoffe in der Außenluft, die ebenfalls im Schokoladenaroma vorkommen und somit der Schokolade als mögliche Geruchsquelle zugeordnet werden könnten, sind u.a.:

- |                           |                         |
|---------------------------|-------------------------|
| • 2-Phenylethanol         | • Butylacetat           |
| • Benzol                  | • Heptanal              |
| • 1-Ethyl-3-methyl-benzol | • Phenol                |
| • Butansäure              | • $\alpha$ -Tolualdehyd |

Folgende Aromastoffe aus der Lebkuchenmessung konnten auch im Chromatogramm der Manner-Innenhof-Messung nachgewiesen werden:

- |                      |                  |
|----------------------|------------------|
| • (+)-Linalool       | • Limonen Dioxid |
| • Ethylacetat        | • Octan          |
| • Decan              | • Pentadecan     |
| • Hexadecan          | • Undecan        |
| • 2-Ethyl-hexansäure | • Undecanal      |
| • Isovanillin        |                  |

Substanz	Vorkommen		
	Schoko- aroma	Lebk.- Aroma	Außen- luft
(+)-Limonen			
(+)-Linalool			
2(3H)-Furanon, Dihydro-5-pentyl) Kokos-Aldehyd			
(E)-Carveol			
(E)-Isoeugenol			
(Z)-Carveol			
(Z)-Cinnamid			
1,2,3,5-Tetramethyl Benzol			
1,3,4-Eugenol			
1,3,4-Eugenol Methyl Ether			
1H-Pyrrol			
1-Octanol			
2,3-Butanediol			
2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on			
2,4-Decadienal (E,E)			
2-Butenal, 3-Methyl-			
2-Methyl-5H-6,7-dihydrocyclopentapyrazin			
2-Nonanon			
2-Phenylethanol			
5-Hydroxymethyl-furfural			
5-Isopentyl-2,3-dimethylpyrazin			
5-Pentyl-2(5H)-furanon			
Acetophenon			
Acetyl Eugenol			
Ameisensäure, 2-Phenylethyl Ester			
Ameisensäure, Butyl Ester			
Benzaldehyd			
Benzoessäure, Ethyl Ester			
Benzol			
Benzol, 1-Ethyl-3-methyl-			
Benzol, Propyl			
Benzylmethanol, α-Methyl-			
Benzylalkohol			
Butanal, 3-Methyl-			
Butansäure			
Coumarin			
Calamenen			
Decan			

Tab. 8: Vorkommen der identifizierten Aromastoffe an den drei Standorten

Fortsetzung der Tabelle 8

	Schoko	Lebk.	Außenl.
Decanal (Capraldehyd)			
Decansäure			
Decansäure, Ethyl Ester			
δ-Cadinen			
Dodecanal			
Essigsäure			
Essigsäure, 2-Phenylethyl Ester			
Essigsäure, Butyl Ester			
Essigsäure, Ethyl Ester			
Ethanon, 1-(1H-Pyrrol-2-yl)			
Furan, 2-Pentyl-			
Furfural (2-Furancarbaldehyd)			
Furfurylalkohol (2-Furanmethanol)			
Geranyl Acetat			
Hemimellitol (Benzol, 1,2,3-Trimethyl)			
Heptanal			
Hexadecan			
Hexansäure			
Hexansäure, 2-Ethyl			
Hexenal			
Isovanillin			
Limonen Dioxid			
Mesitylen			
Methylnaphthalin			
m-Xylol			
Myristicin Aldehyd			
Myristicin			
Nonanal			
Octan			
Octanal			
Octansäure			
o-Xylol			
p-Cymenol			
Pelargonsäure			
Pentadecan			
Pentansäure			
Pentansäure, 3-Methyl-ethylester			
Pentansäure, 4-Methyl-			
Phenylethanal			
Phenol			
Propansäure, 2-Methyl-			
Pseudocumen			

Fortsetzung der Tabelle 8

	Schoko	Lebk.	Außenl.
p-Xylol			
Pyrazin, 2,3-Dimethyl-			
Pyrazin, 2,5-Dimethyl-			
Pyrazin, 2,5-Dimethyl-3-(2-methylpropyl)-			
Pyrazin, 2-Ethyl-3,5-dimethyl-			
Pyrazin, Methyl-			
$\beta$ -Caryophyllen Oxid			
$\beta$ -Citral			
$\beta$ -Citronellyl Acetat			
$\beta$ -Geraniol			
$\beta$ -Myrcen			
$\tau$ -Terpinen			
Tetradecanal			
Toluol			
trans-Zimt-Aldehyd			
trans-Limonen Oxid			
Trisulfid, Dimethyl-			
Undecan			
Undecanal			
Valencen			
Vanillaldehyd/Vanillin			
$\alpha$ -Carveol			
$\alpha$ -Copaen			
$\alpha$ -Curcumen			
$\alpha$ -Muurolen			
$\alpha$ -Terpinol			
$\alpha$ -Terpineol			
$\alpha$ -Tolualdehyd			

Die Ergebnisse der Messungen auf dem Fabriksgelände der Manner AG stellen die Unterschiede in der Aromastoff-Zusammensetzung der beiden dominierenden Geruchsquellen Schokolade und Lebkuchen dar. Zusätzlich können durch die Analyse der „Außenluft“ im Manner-Innenhof aromaaktive Verbindungen identifiziert und teilweise dem Aroma der von Manner produzierten Kekse oder Schokoladen zugeordnet werden. Es lässt sich also durchaus auch im Freien ein spezifischer Geruch nach „Manner-Produkten“, den man je nach Wind- und Wetterverhältnissen in bestimmten Teilen des 16. und 17. Bezirks wahrnehmen kann, bestätigen.

## 4.2 Diskussion der Ergebnisse vom Volksgarten

### 4.2.1 Ergebnisse der sechsstündigen Messung im Rosenbeet der modernen Rosenzüchtung *Friesia*

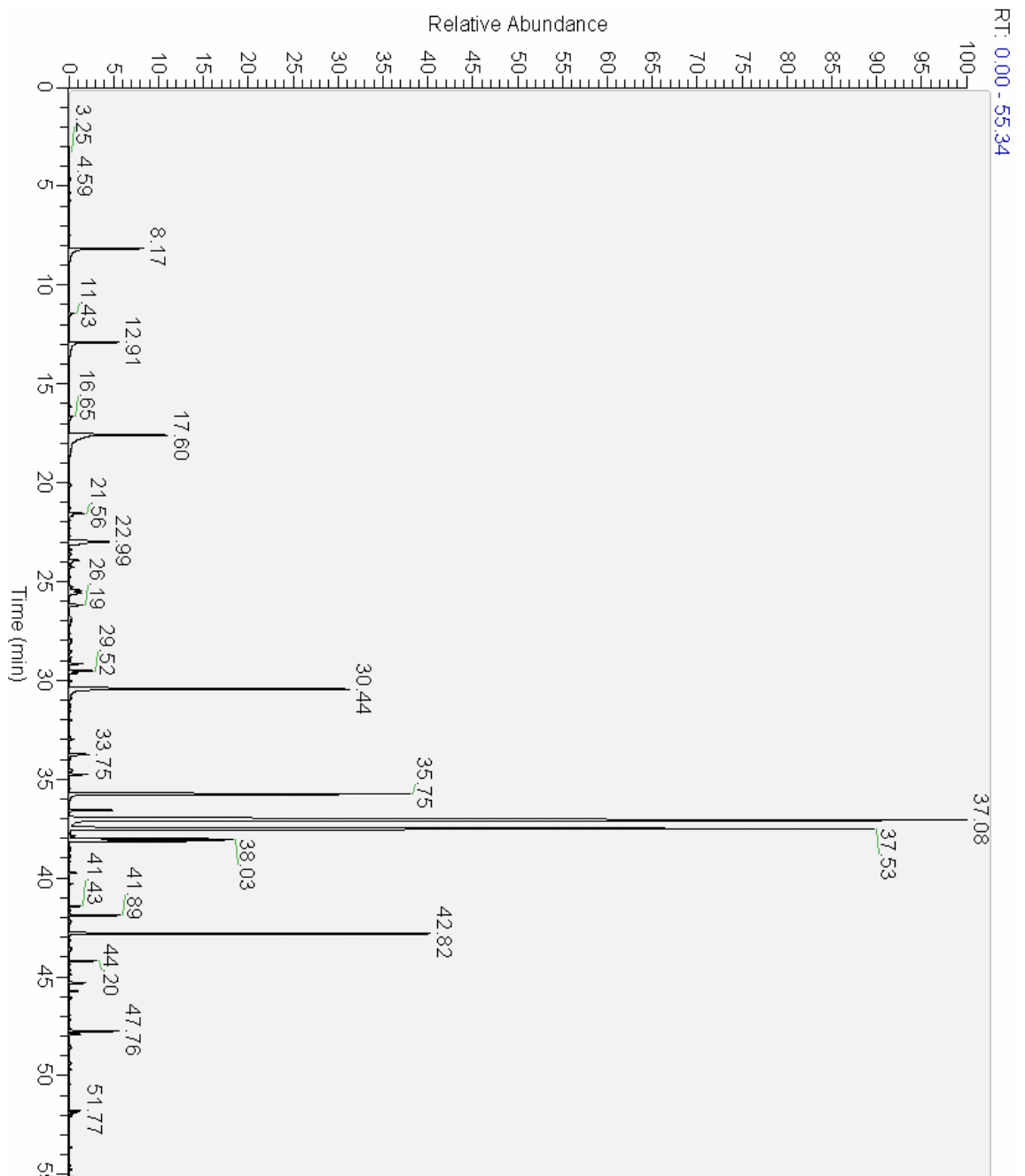


Abb. 14: Chromatogramm der Messung im Rosenbeet

Auswertung der sechsstündigen Messung im Rosenbeet:

RT	Verbindung		
11.43	(Methyl-benzen) Toluol	33.45	2-Pinen-4-ol ((+)-Verbenol)
16.16	Ethyl-Benzol	34.02	Dodecan
16.64	p-Xylol	34.56	Naphthalin
16.66	m-Xylol	34.76	<b>Decanal (Capraldehyd)</b>
22.99	<b>β-Myrcen</b>	35.50	M-Cymen-4-ol
23.38	Decan	35.76	<b>(Z)-Geraniol</b>
23.92	<b>3-Hexen-1-ol, Acetat (Z)</b>	36.57	<b>β-Citral</b>
24.01	<b>Octanal</b>	37.08	<b>β-Geraniol</b>
24.17	α-Phellandren	37.53	<b>Phenethyl-Acetat</b>
24.27	<b>Hexyl Acetat</b>	38.03	<b>Cis-Citral</b>
24.73	α-Terpinen	38.12	<b>3,5-Dimethoxytoluol</b>
25.26	o-Cymen	38.93	Tridecan
25.27	<b>p-Cymen</b>	39.18	Geranyl Format
25.32	m-Cymen	40.04	Methylnaphthalin
25.46	<b>(+)-Limonen</b>	40.30	Methyl-Geranylat
25.58	<b>α-Pinen</b>	41.43	<b>Citronellyl Acetat</b>
25.67	<b>(+)-3-Caren</b>	41.64	<b>α-Cubeben</b>
25.71	<b>β-Phellandren</b>	41.90	<b>Neryl Acetat</b>
25.72	<b>(+)-Sabinen</b>	42.20	<b>1,3,4-Eugenol</b>
26.18	<b>β-Ocimen</b>	42.34	<b>β-Ionol</b>
26.76	α-Tolualdehyd	42.34	(+)-2-Caren, 2-Isopropenyl
27.02	T-Terpinen	42.82	<b>Geranyl Acetat</b>
28.54	<b>α-Terpinolen</b>	43.15	(+)-Cabaren
28.56	γ-Terpinen	43.55	Tetradecan
28.83	Undecan	44.20	<b>Methyleugenol</b>
29.16	<b>β-Linalool</b>	44.37	Dodecanal (Lauraldehyd)
29.52	<b>Nonanal</b>	44.88	<b>Benzol, 1,3,5-Trimethoxy</b>
30.44	<b>2-Phenylethanol</b>	45.32	<b>β-Caryophyllen</b>
32.02	<b>Neroloxid</b>	45.72	<b>β-Ionon, Dihydro-</b>
32.84	Phenylmethyl Acetat		

46.35	<b>(-)-<math>\delta</math>-Cadinol</b>	48.50	<b>Methyl-Isoeugenol</b>
46.62	<b>1,3,4-Isoeugenol-Methyl Ether</b>	48.60	<b><math>\alpha</math>-Muurolen</b>
46.95	<b><math>\alpha</math>-Humulen</b>	49.39	$\gamma$ -Cadinen
47.18	(+)-Epi-Bicyclosesqui-phellandren	49.69	Calamenen
47.91	<b>Pentadecan</b>	50.74	<b>Elemen</b>
		52.03	<b>Hexadecan</b>

Tab. 9: Auswertung der Messung im Rosenbeet (Volksgarten)

Wichtig bei einer anschließenden Gegenüberstellung der Messung direkt im Rosenbeet und der Messung bei einer Parkbank in Rosenbeetnähe ist die Veranschaulichung der Unterschiede bezüglich Anzahl und Vorkommen der gefundenen Duftstoffe in den jeweiligen Proben. Um die Tabellen übersichtlicher zu gestalten, sind die in der Literatur den verschiedenen Rosendüften eindeutig zugeschriebenen Verbindungen fettgedruckt eingetragen. Um Wiederholungen zu vermeiden, werden die Verbindungen, die bereits in einem vorhergehenden Chromatogramm erwähnt worden sind, nicht nochmals extra diskutiert! Anhand der fettgedruckten Verbindungen ist ein Vergleich der unterschiedlichen Tabellen untereinander möglich.

#### 4.2.1.1 Diskussion der Ergebnisse der Rosenbeetmessung

Die Autoren Ueyama und Hashimoto untersuchten 1990 die chemische Zusammensetzung des Rosenöls von *Rosa rugosa* Thunb. var. *plena* Regal, eine Rosensorte, die in Zentralchina beheimatet ist, anhand von GC und GC-MS-Techniken. Obwohl das oben dargestellte Chromatogramm die Duftstoffe einer modernen Rosenzüchtung mit dem Namen Friesia zeigt, können doch einige der Verbindungen, die im Rosenöl der *Rosa rugosa* gefunden wurden, auch bei den Messungen an den *Friesia*-Rosen detektiert werden: darunter  $\beta$ -Myrcen, (+)-Limonen,  $\alpha$ -Pinen,  $\beta$ -Ocimen,  $\alpha$ -Terpinolen, Phenylethylalkohol,  $\beta$ -Linalool, Neroloxid, (Z)-Geraniol,  $\beta$ -Geraniol, Phenethyl-Acetat, Citronellol Acetat, Nerol-Acetat, 1,3,4-Eugenol, Methyleugenol und Geranyl Acetat [UEYAMA und HASHIMOTO, 1990].

Allgemein kann man der Literatur entnehmen, dass die Verbindungen 2-Phenylethanol, Benzylalkohol, Nerol, Geraniol, Geranyl-Acetat und einige Kohlenwasserstoffe in den meisten Rosenarten die Hauptbestandteile des typischen Duftes ausmachen [ANTONELLI et al., 1997].

Bei einer SPME/GC- und olfaktorischen Analyse vom essentiellen Öl der *Rosa damascena* L. aus China von Jirovetz et al. (2005) konnten zusätzlich folgende Duftstoffe identifiziert werden, die auch bei der Sorte *Friesia* vorkommen: Octanal, (+)-3-Caren, Sabinen, Nonanal,  $\alpha$ -Cubeben, Elemen,  $\beta$ -Caryophyllen und  $\alpha$ -Humulen. Die drei letzten Verbindungen sind zusammen mit den Eugenolderivaten wie Methyleugenol, Methyl-Isoeugenol und 1,3,4-Isoeugenol-Methylether für den würzigen Geruch der Rosen verantwortlich [JIROVETZ et al., 2005].

Außerdem findet man bei 23.92 min (Z)-Hex-3-enyl-1-acetat und bei 25.71 min  $\beta$ -Phellandren, die in einigen Rosenarten wie etwa in *Rosa damascena* Mill und verschiedenen Hybridsorten vorkommen [BRUNKE et al., 1992].

Weiters kann man bei 24.27 min Hexylacetat nachweisen; diese Verbindung gehört ebenfalls mehreren Rosendüften an [BRUNKE et al., 1992; JOICHI et al., 2005].



Bei 30.44 min lässt sich ein Peak als 2-Phenylethanol identifizieren. Dieser Alkohol kommt in variierenden Mengenanteilen je nach Sorte in vielen verschiedenen Rosen vor und besitzt einen blumigen, rosenartigen Geruch mit leichter Honignote [JIROVETZ et al., 2005].

Decanal, welches bei 34.76 min auftritt, kommt auch im türkischen Rosenöl als einer der Hauptduftstoffe vor [AYCI et al., 2005].

In einer Studie über die Duftstoffe der Sorte *Rosa hybrida* cv. honesty werden die oxidierten Monoterpenole *trans*- und *cis*-Citral zusammen mit Methylgeranilat als wichtige duftende Inhaltstoffe aufgelistet, die hier bei 36.57, 38.03 und 40.30 min ebenfalls identifiziert werden können [HELSPER et al., 2002].

3,5-Dimethoxytoluol (38.12 min) besitzt einen charakteristischen „Teegeruch“ [CHERRI-MARTIN et al., 2007]. Zusammen mit der Verbindung 1,3,5-Tri-methoxybenzen bei 44.88 min werden sie von Joichi et al. (2005) zu den Schlüsselverbindungen von modernen, duftenden Tee-Rosen gezählt. Der Duft letzterer Substanz hat eine phenolisch-würzige, erdige und animalische Note [JOICHI et al., 2005].

Das bei einer Retentionszeit von 52.03 min auftretende Hexadecan wird von Ayci et al. (2005) den Hauptbestandteilen des türkischen Rosenöls zugeordnet. Im chinesischen Rosenduft werden allgemein Kohlenwasserstoffe mit Kettenlängen zwischen C15 und C31 gefunden [JOICHI et al., 2005]. Neben dem Hexadecan kann bei den Rosen der Sorte *Friesia* auch Pentadecan bei 47.91 min identifiziert werden.

Weitere bekannte Schlüsselverbindungen, wie *cis*- und *trans*-Rosenoxid, *cis*- und *trans*- $\beta$ -Damascenon sowie Damascon, sind typisch für die Sorte *Rosa damascena* und konnten jedoch selbst in deren Duft nur in Spuren gefunden werden [JIROVETZ et al., 2005]. Bei dieser Probe wurde keine dieser Verbindungen detektiert. Ob die Zuchtrose *Friesia* diese Verbindungen überhaupt ihr eigen nennen kann, oder ob die emittierten Konzentrationen für eine SPME-Freiluft-Messung zu gering sind, bleibt fraglich.

Man kann davon ausgehen, dass die Rosensorte *Friesia* einige Duftstoffe besitzt, die nicht in der Literatur über andere Rosendüfte erwähnt werden. Wichtig jedoch ist, dass hier einige typische Verbindungen, die eindeutig duftende Inhaltsstoffe von Rosen darstellen, identifiziert werden konnten.

In der Auflistung von Jirovetz et al. (2005) werden die flüchtigen Bestandteile zweier verschiedener Rosensorten und deren charakteristischen Dufteigenschaften zusammengefasst. Einige der detektierten Verbindungen aus den „Volksgarten-Chromatogrammen“ sind mit jenen aus der Liste ident.

Compound	Aroma impressions
Ethanol	Etheral, alcohol-like
Pentanal	Woody, vanilla, fruity, nutty on dilution
2-Butanol	Medicinal, ethereal
$\alpha$ -Pinene	Woody, pine-like
2-Methyl propanol	Pungent, sharp
Hexanal	Fatty, grassy, green, penetrating
$\beta$ -Pinene	Woody, pine-like
Sabinene	Weak turpentine-like, spicy (pepper note), warm-woody
$\beta$ -Myrcene	Sweet-balsamic, plastic side-note
$\delta$ -3-Carene	Sweet, refined limonene-note, penetrating
Heptanal	Oily, fatty, sweet, woody, nutty or fruity on dilution
<i>iso</i> -Amyl alcohol	Fusel and whiskey note
Limonene	Fresh, fruity, citrus, lemon and orange note
1,8-Cineole	Fresh, eucalyptus-like
<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimene	Spicy (estragon and basil notes)
<i>p</i> -Cymene	Weak citrus-note
<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol	Green ('leaf alcohol'), fresh grass-like
<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimene	Spicy (estragon and basil notes)
Terpinolene	Sweet-piney, slightly sweet-anisic, plastic-like side-notes
<i>trans</i> -1-Hexen-3-ol	Intense green with bitter and fatty side-notes
Hexanol	Alcoholic, ethereal, medicinal
<i>cis</i> -Rose oxide	Floral, rose-like, geranium notes, green
<i>trans</i> -Rose oxide	Floral, rose-like, geranium notes
Nonanal	Floral, citrus, orange and rose notes, fatty, waxy
Tetrahydrolinalool	Weak sweet-floral, green-woody notes
Acetic acid	Pungent, powerful sour
Butyl tiglate	Warm herbaceous, sweet
<i>cis</i> -Linalool oxide	Sweet-woody, floral-woody-earthy side-notes
<i>trans</i> -Linalool oxide	Powerful sweet-woody, floral
<i>trans</i> -Sabinene hydrate	Spicy, warm, weak woody
Cironellal	Citronella-like, fresh, lemon- and citrus-like, green
$\delta$ -Elemene	Weak woody, herbaceous
$\alpha$ -Cubebene	Herbal-woody
Benzaldehyde	Bitter almond-like, nutty, aromatic
Linalool	Refreshing-clean-floral, citrus-lemon-orange notes
$\beta$ -Bourbonene	Vetiver notes, fresh-green
Linalyl acetate	Floral, fresh, lavender-like
$\beta$ -Elemene	Weak woody, green-herbal
Citronellyl formate	Rose-like, fruity (apricot, peach and plum notes)
Terpinene-4-ol	Spicy, woody-earthy, nutmeg and lilac notes
$\beta$ -Caryophyllene	Terpene-odour, woody, spicy

Abb. 15: Verbindungen aus dem ätherischen Öl und den SPME-Headspace-Proben von *Rosa damascena* aus Bulgarien und von *Rosa centifolia* aus Marokko und deren korrespondierende Aromaeindrücke [JIROVETZ et al., 2005].

Citronellyl acetate	Rose, citrus- and lemon peel-like
$\alpha$ -Humulene	Weak woody
<i>trans</i> - $\beta$ -Farnesene	Mild, sweet, warm
Neral	Rose-like, sweet, green
Heptadecane	Weak fatty
Geranial	Sweet, rose-like, warm-floral
<i>trans</i> - $\beta$ -Damascenone	Floral, rose-like
$\alpha$ -Terpineol	Lilac odour, floral, fruity
Neryl acetate	Rose-like, floral, fruity
Geranyl acetate	Rose and lavender-like, sweet-fruity
Citronellol	Floral, intense rose-like, weak fruity
Nerol	Floral, rose-like, weak fruity
2-Phenylethyl alcohol	Floral, rose-like, honey notes
$\alpha$ -Cadinene	Dry-woody, weak medicinal
<i>cis</i> - $\beta$ -Damascenone	Floral, rose-like
Geraniol	Rose-like, sweet-floral, fruity, mild
<i>iso</i> -Geraniol	Weak rose-like, green and herbaceous notes
Damascone	Floral, rose-like
Nonadecane	Weak fatty
$\beta$ -Ionone	Mild-warm-floral, balsamic, violet-like on dilution
9-Eicosene	Weak fatty, weak petrol-like
2-Phenylethyl acetate	Floral, weak rose-like
Methyl eugenol	Spicy, clove-like
Nerolidol	Rose and apple-like, green-citrus-like, woody-waxy
Heneicosane	Weak fatty
Eugenol	Strong spicy, cinnamon and clove-like
Docosane	Weak fatty
Farnesol	Floral-oily
Acetyl eugenol	Spicy
Tricosane	Weak fatty
Tetracosane	Weak fatty

Fortsetzung der Abb. 15

Rosen unterscheiden sich demnach – neben der Sorte und Blütenfarbe – v.a. in der Duftstoffzusammensetzung.

Abb. 16:  
Friesiablüte mit  
SPME-Sampler  
[FEUERSTEIN,  
2008]



Abb.17:  
Rosenbeet  
Friesia, Volks-  
garten  
[FEUERSTEIN,  
2008]



#### 4.2.2 Ergebnisse der sechsstündigen Messung bei einer Parkbank in Rosenbeetnähe

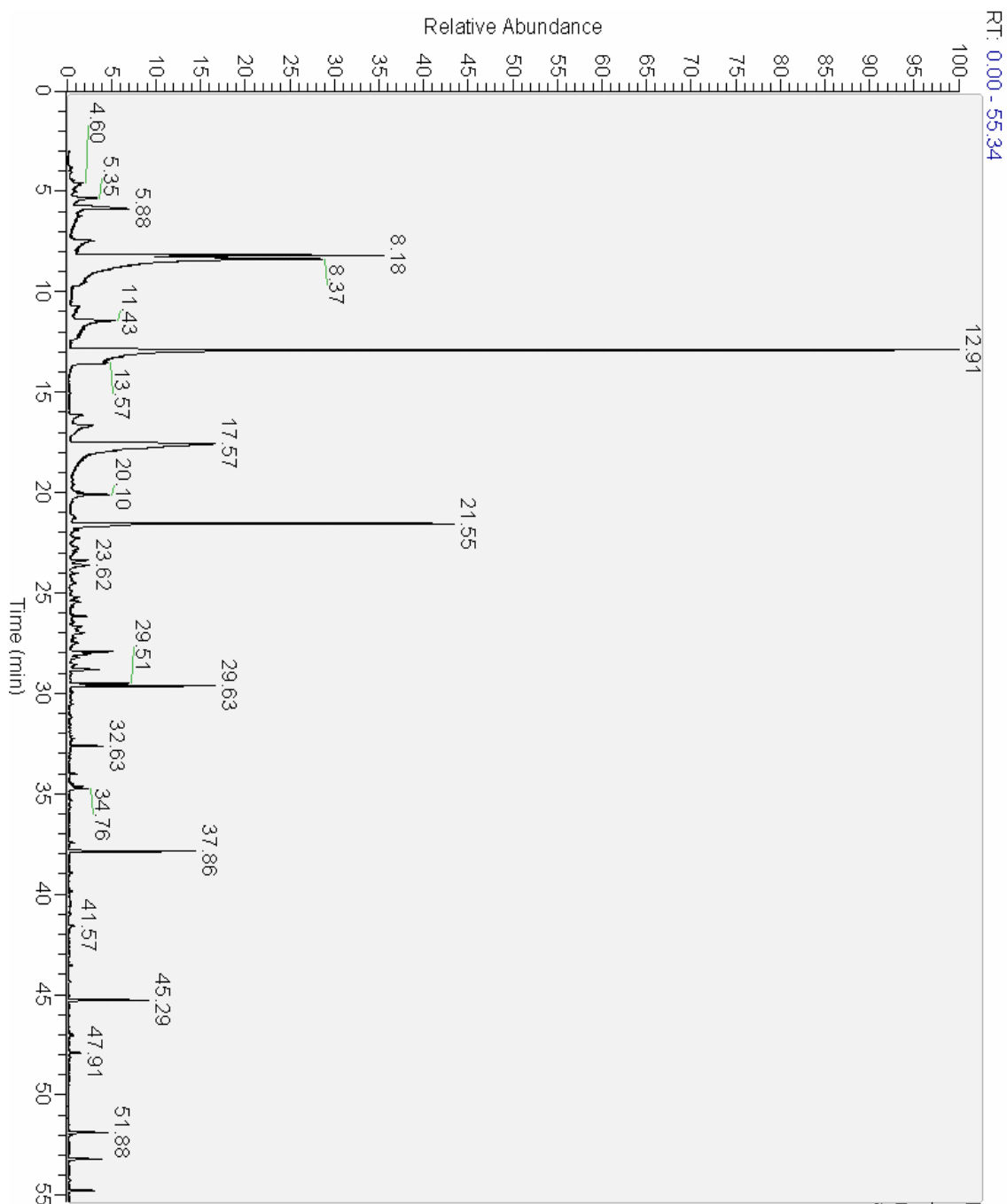


Abb. 18: Chromatogramm der Messung auf einer Parkbank

Auswertung des Chromatogrammes der Rosenbeetmessung:

RT	Verbindung		
4.62	Propanal	22.31	<b>Benzaldehyd</b>
4.70	1,3-Butadien, 2-Methyl	22.68	Cumen
5.54	1-Butanol, 3-Methyl-	22.96	5-Hepten-2-on, 6-Methyl-
5.85	Essigsäure	23.37	Decan
5.89	<b>1-Pentanol</b>	23.62	Mesitylen
5.98	2-Butanon	24.00	<b>Octanal</b> (Caprylaldehyd)
6.08	2-Propensäure	25.23	Benzol, 1,4-Diethyl-
6.16	Furan, 2-Methyl-	25.44	<b>(+)-Limonen</b>
6.25	2-Pentanol, 2-Methyl-	25.68	<b>1,8-Cineol</b>
7.45	Benzol	28.55	1,2,3,5-Tetramethylbenzol
7.65	Hexan, 3-Methyl-	28.83	Undecan
8.36	Heptane	30.44	<b>2-Phenylethanol</b>
9.52	Cyclohexan, Methyl-	30.56	Isoduren
11.42	Toluol	31.97	$\beta$ -Pinon
13.54	Butyl Acetat	32.33	<b>(+)-Camphor</b>
16.15	Benzol, Ethyl-	32.86	Sabinen Keton
16.66	p-Xylol	34.02	Dodecan
16.67	m-Xylol	37.44	<b>2-Phenylethyl Acetat</b>
16.70	o-Xylol	45.08	(+)-Longifolen
17.92	Benzenethanol, $\alpha,\beta$ -Dimethyl-	46.05	<b>Geranylaceton</b>
21.26	Benzol, Propyl-	47.90	<b>Pentadecan</b>

Tab. 10: Auswertung des „Parkbank-Chromatogrammes“

**4.2.2.1 Diskussion der Ergebnisse der „Parkbank-Messung“**

Interessant ist, dass man an Plätzen, die man als normaler Parkbesucher gewöhnlich aufsucht, wie etwa die einige Meter von den Rosenbeeten entfernten Parkbänke, anhand der SPME-Analysen nachweislich einige dem Rosenduft zuordenbare Verbindungen identifizieren und in Folge dessen wahrscheinlich auch riechen kann. Dazu gehören flüchtige Verbindungen wie Benzaldehyd, (+)-Limonen, 1,8-Cineol, 2-Phenylethanol und Geranylaceton [JIROVETZ et al.,



2005; UHEYAMA und HASHIMOTO, 1990]. Geranylaceton wurde überraschenderweise in diesem Chromatogramm, nicht jedoch in jenem von der Messung direkt im Rosenbeet gefunden. Auch 1,8-Cineol bei einer Retentionszeit 25.68 min wird bei den Studien von Jirovetz et al. (2005) als Bestandteil des Rosenduftes erwähnt. Es gehört zu der Gruppe von Epoxy-Monoterpenen und riecht frisch und campherartig.

(+)-Campher, der bei einer Retentionszeit von 32.33 min detektiert werden kann, ist ein Bestandteil des Duftes moderner chinesischer Rosensorten [JOICHI et al., 2005]. Manche Rosensorten besitzen einen hohen Anteil an 2-Phenylethylacetat, das hier mit einer Retentionszeit von 37.44 min aufscheint [BRUNKE et al., 1992].

Da in diesem Chromatogramm auch viele andere geruchsaktive, flüchtige Verbindungen identifiziert werden konnten, muss man hier das Zusammenspiel aller flüchtigen Substanzen beachten. Obwohl viele Duftstoffe nicht zugeordnet werden können – einerseits weil sie ubiquitär vorkommen und andererseits weil im Freien zu viele Geruchsquellen in Frage kommen – kann man doch durch die chemisch-analytische Auftrennung bestätigen, dass ein Teil des Rosenduftes selbst auf der Parkbank wahrnehmbar ist.



Abb. 19: SPME-Sampler auf Parkbank im Volksgarten [FEUERSTEIN, 2008]

### 4.2.3 Ergebnisse der 18-stündigen „Rosenblütenblätter-Messung“ der Sorte *Duftwolke* im Vial

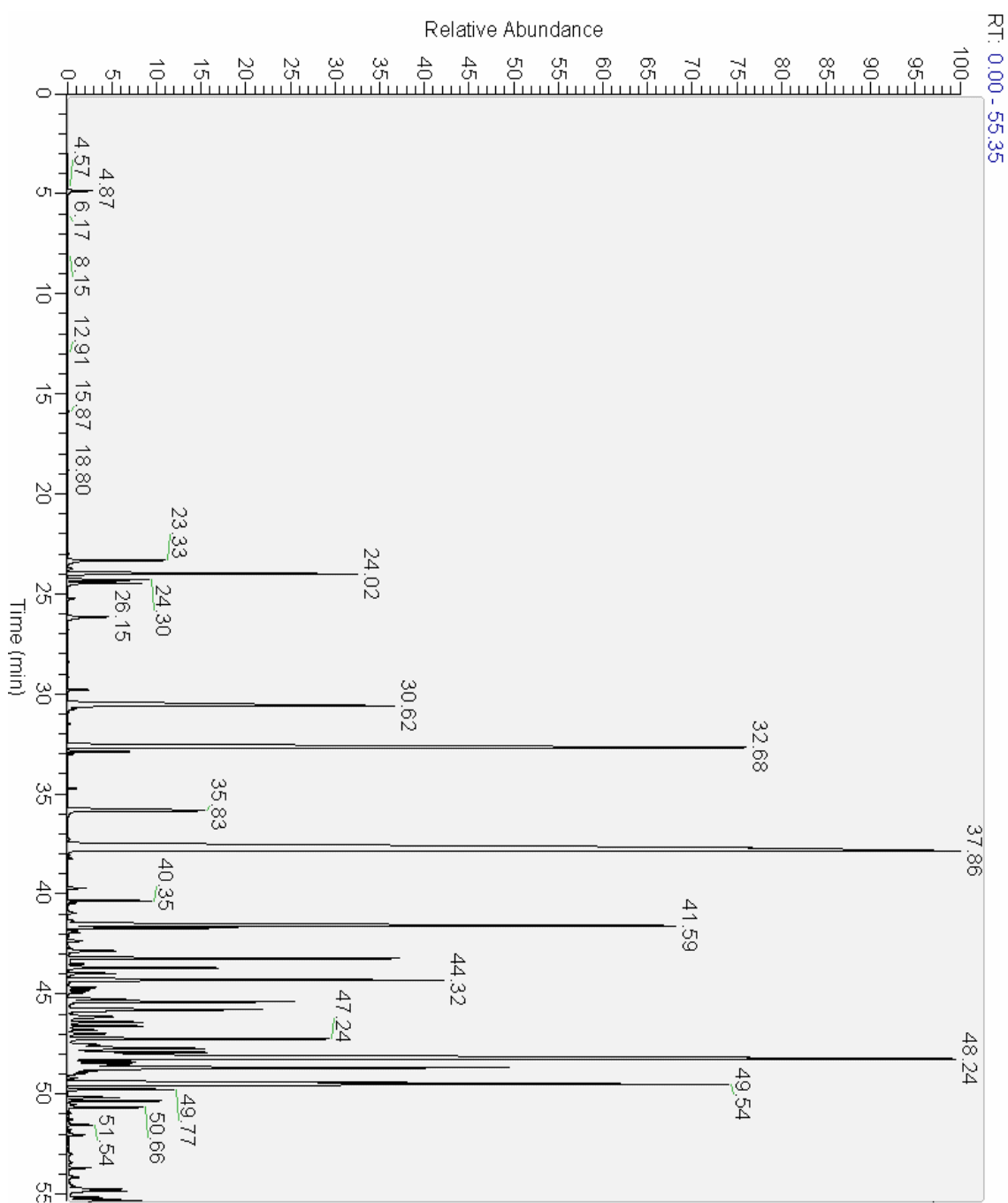


Abb. 20: Chromatogramm zur Rosenblütenmessung im Vial

### Auswertung des Chromatogrammes der 18-stündigen Rosenblütenmessung:

RT	Verbindung
4.57	2-Propanon
4.87	Methyl Acetat
6.17	Ethyl Acetat
8.56	3-Pentanon
9.10	Propyl Acetat
11.58	2-Penten-1-ol, (Z)
15.57	<b>3-Hexen-1-ol</b>
15.87	<b>2-Hexenal</b>
16.32	<b>2-Hexen-1-ol, (E)-</b>
16.39	Cyclohexanol
16.41	<b>2-Hexen-1-ol, (Z)-</b>
16.50	Hexanal
16.52	1-Pentanol, 3-Methyl-
16.78	Isopentyl-Acetat (Banana oil)
17.94	Benzol, Ethenyl
18.72	2-Penten-1-ol, Acetat, (Z)-
18.80	Pentyl Acetat
19.30	2-Buten-1-ol, 3-Methyl- Acetat
19.36	Anisol
21.88	2-Capronsäure, Methyl Ester
22.28	<b>Benzaldehyd</b>
22.59	2-Penten, 3-Methyl-, (Z)
22.98	<b><math>\beta</math>-Myrcen</b>
23.33	Benzol (Methoxymethyl-)
24.01	<b>3-Hexen-1-ol, Acetat (Z)</b>
24.30	<b>Hexylacetat</b>
24.48	<b>2-Hexen-1-ol, Acetat (E)-</b>
25.23	Bicyclo [3.3.0]oct-6-en-3-on
25.47	<b>(+)-Limonen</b>

26.15	<b>Benzylalkohol</b>
26.77	2-Phenylethanal
27.67	2,4-Hexadiensäure, Ethyl Ester (E,E)
28.42	$\beta$ -Phenylethyl Methyl Ether
28.73	<b><math>\alpha</math>-Naginen (Rosefuran)</b>
28.98	3,4-Dimethylstyren
29.15	Furan-3-(4-methyl-3-pentenyl)
29.79	<b>(E)-Rose Oxid</b>
30.62	<b>Phenylethylalkohol</b>
30.75	<b>(Z)-Rose Oxid</b>
30.92	2,4(10)-Thujadien
31.36	$\beta$ -Pyronen
31.48	2-Ethylhexyl Acetat
32.07	<b>Neroloxid</b>
32.09	<b>Citronellal</b> (6-Octenal, 3,7-Dimethyl-)
32.68	<b>P-Vinyl-Anisol</b>
32.88	Phenylmethyl Acetat
34.73	(E)-Anethol
35.83	<b><math>\beta</math>-Citronellol</b>
37.65	<b>Phenethyl Acetat</b>
38.08	<b>(E)-Citral (Geranial)</b>
38.24	<b>(Z)-Methyl-Geranyl</b>
38.96	Tridecan
39.70	2-Camphenilol
39.93	Styren, $\beta$ -Azido (E)
40.04	Anisol, o-(1-methylallyl)-
40.35	<b>Methyl Geranyl</b>
40.88	<b>(+)-<math>\beta</math>-Guajen</b>



41.59	<b>β-Citronellyl Acetat</b>	48.68	<b>α-Muurolen</b>
41.70	<b>α-Cubeben</b>	49.41	<b>γ-Cadinen</b>
41.85	Butansäure, Phenylmethyl Ester	49.54	(+)-γ-Cadinen
41.93	γ-Terpineol Acetat	49.77	<b>(-)-Calamenen</b>
42.84	<b>Geraniol Acetat</b>	50.19	Cadina-1,4-Dien
43.22	<b>(-)-α-Copaen</b>	50.35	<b>(-)-α-Cadinen</b>
43.69	<b>β-Cubeben</b>	50.66	Calacoren
44.32	Eugenol Methyl Ether	52.03	<b>Hexadecan</b>
44.67	(+)-Lepidozen	52.16	(+)-Spathulenol
44.81	<b>τ-Muurolen</b>	52.54	(+)-Longifolen
45.38	<b>(-)-β-Caryophyllen</b>	52.63	(-)-Globulol
(45.86)	epi-Bicyclosesquiphellandren	53.43	<b>β-Ionon</b>
46.14	<b>Dihydro- β-Ionol</b>	53.69	1-(Methoxy-1-naphthyl)-ethanon
46.98	<b>α-Humulen</b>	54.18	(+)-Carotol
48.01	<b>Pentadecan</b>	54.75	<b>α-Cadinol</b>
48.24	<b>Germacren D</b>	54.83	τ-Cadinol
48.49	γ-Muurolen	55.31	<b>(-)-τ-Muurolol</b>

Tab. 11: Auswertung des Chromatogrammes der „Vial-Messung“

#### 4.2.3.1 Diskussion der 18-stündigen „Vial-Messung“

Im Gegensatz zu den vorherigen Messungen, die erstens den Duft der Rosensorte *Friesia* untersuchten und zweitens alle im Volksgarten durchgeführt wurden, pflückt man hier einige Rosenblätter der Rosensorte *Duftwolke*, deren Duft darauf 18 h lang in einem luftdicht verschlossenen Vial mittels SPME gesammelt wurde.

Bei diesen Auswertungen sind v.a. diejenigen Verbindungen interessant, die weder in der „Rosenbeet-Messungen“ noch bei jenen in Parkbanknähe vorkommen. Außerdem bietet sich ein Vergleich mit der einstündigen Messung derselben Rose an, die jedoch wiederum im Volksgarten direkt am Rosenstock und an der freien Luft vorgenommen wurde. Wie im Literaturteil erwähnt, verändert sich das Aroma eines gepflückten Pflanzenteils gegenüber dem Duft einer intakten Pflanze merklich.

Viele Verbindungen überschneiden sich mit denen aus den vorhergehenden Messungen (fettgedruckt), einige jedoch sind neu, da es sich um eine andere Rosensorte handelt: Dazu zählen 2-Hexenal,  $\alpha$ -Humulen, Germacren D, Benzylalkohol,  $\beta$ -Ionon, Dihydro- $\beta$ -ionol, (+)- $\beta$ -Guaiol,  $\tau$ -Muurolool und  $\alpha$ -Cadinol. Diese Duftstoffe können nach Joichi et al. (2005) u.a. modernen Tee-Rosendüften angehören. Dihydro- $\beta$ -ionol spielt dabei eine wichtige Rolle und verleiht den Rosen einen veilchenartigen und erdigen Geruch [JOICHI et al., 2005]. Dieses Keton nimmt zusammen mit  $\beta$ -Ionon eine wichtige Rolle im Rosenduft ein, da sie einen extrem niedrigen olfaktorischen Schwellenwert besitzen [CHERRI-MARTIN et al., 2007].  $\beta$ -Ionon wurde von Jirovetz et al. (2005) durch einen mild-warm-blumigen, balsamischen, veilchenartigen Geruchseindruck charakterisiert und kommt auch im ätherischen Öl von *Rosa damascena* L. vor.

- Dem  $\alpha$ -Humulen wird ein schwach holziger Geruch zugeschrieben [JIROVETZ et al., 2005].
- P-Vinylanisol bei 32.68 min wurde nur selten unter den Rosenduftbestandteilen verschiedener Rosensorten angeführt [ANTONELLI et al., 1997].
- Germacren D ist in manchen Rosensorten in relativ hohen Mengen (> 50 % der Gesamtbestandteile) vertreten und auch sonst in vielen anderen Pflanzen enthalten [CHERRI-MARTIN et al., 2007].

Brunke et al. (1992) ordnen weiters die hier detektierten Duftstoffe (E)-2-Hexenylacetat (24.48 min), (Z)-Methyl-Geranat (38.24 min) und  $\alpha$ -Muurolool (48.68 min) verschiedenen Rosensorten zu. Diese drei Verbindungen scheinen nicht in der Messung des *Friesia*-Duftes auf, können aber aus dem Vail der *Duftwolke*-Rosenblüten detektiert werden.

#### 4.2.4 Ergebnisse der einstündigen Duftmessung vor einer *Duftwolke-Rosenblüte*

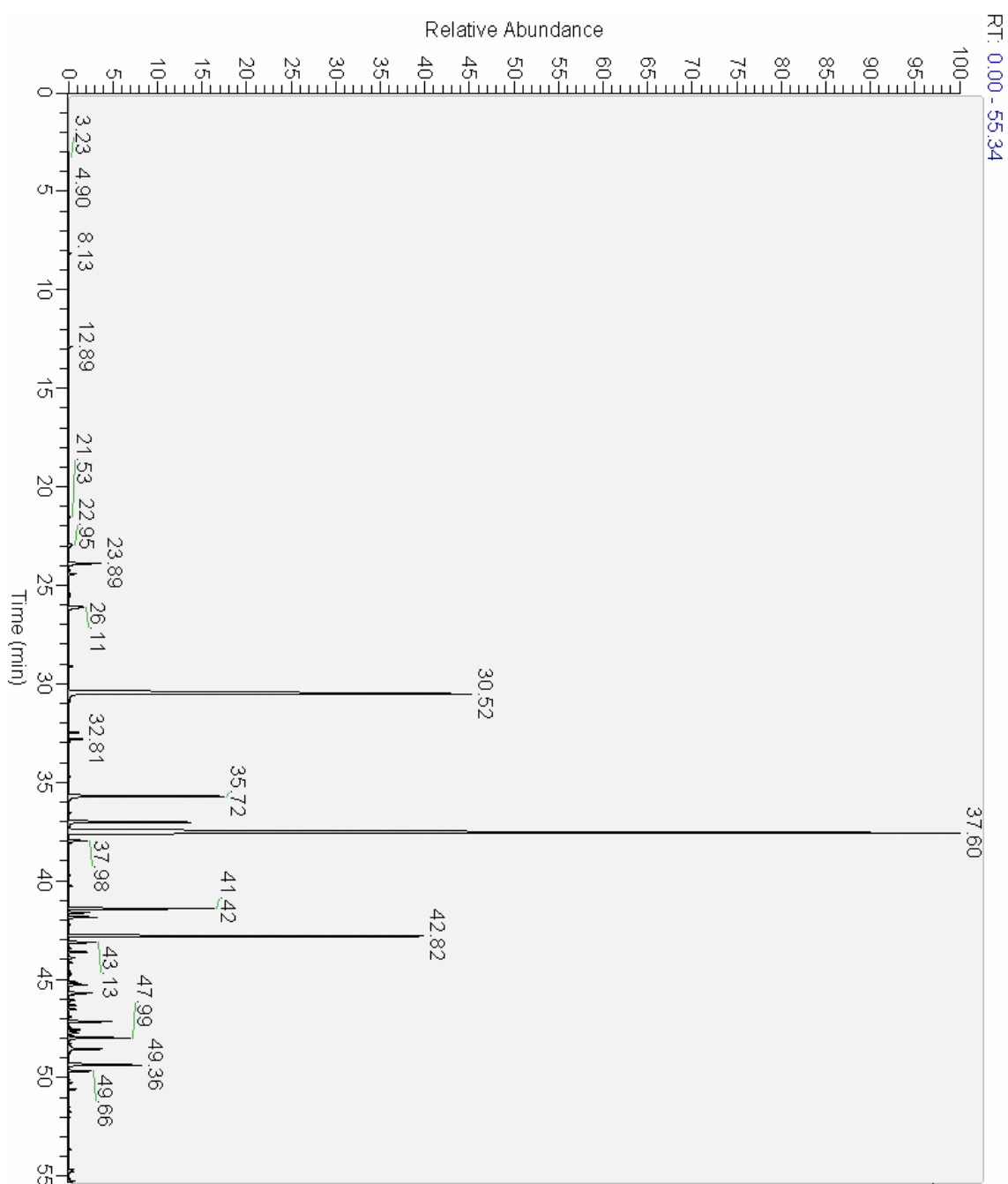


Abb. 21: Chromatogramm zur Messung an der *Duftwolke*-Blüte

Auswertung der einstündigen Messung des Duftes der Rosenblüte *Duftwolke*:

RT	Verbindung
4.90	Methyl Acetat
5.61	Ameisenessigsäureanhydrid
7.43	Benzol
15.94	<b>2-Hexanal</b>
16.34	<b>2-Hexen-1-ol, (E)</b>
16.50	Cyclobutanol, 2-Ethyl
16.63	p-Xylol
16.69	m-Xylol
16.78	<b>3-Buten-1-ol, 2-Methyl Acetat (Banana Oil)</b>
17.19	1,3-Cyclopentadien
21.86	Toluol
22.95	<b><math>\beta</math>-Myrcen</b>
23.29	Benzol, (Methoxymethyl)-
23.89	<b>3-Hexen-1-ol, Acetat (Z)-</b>
24.23	<b>Hexylacetat</b>
24.42	<b>2-Hexen-1-ol, Acetat (E)-</b>
24.71	$\gamma$ -Terpinen
25.23	m-Cymen
25.42	2-Bornen
25.48	<b>(+)-Limonen</b>
25.54	<b><math>\alpha</math>-Pinen</b>
26.10	$\alpha$ -Toluenol
26.73	$\alpha$ -Tolualdehyd
28.41	Ethanol, 2-Butoxy, Acetat
28.48	<b><math>\alpha</math>-Terpinolen</b>
28.79	Undecan
28.96	Styren, 3,4-Dimethyl-
29.13	<b><math>\beta</math>-Linalool</b>
29.49	<b>Nonanal</b>

30.62	<b>2-Phenylethanol</b>
31.98	<b><math>\beta</math>-Citronellal</b>
32.47	<b>4-Vinylanisol</b>
32.81	$\alpha$ -Acetoxytoluol (Phenylmethyl Acetat)
33.56	<b><math>\beta</math>-Phenethyl Format</b>
33.75	(1-Allylcyclopropyl)Methanol
33.98	Dodecan
34.57	<b><math>\alpha</math>-Terpineol</b>
34.73	<b>Decanal</b>
35.27	<b><math>\gamma</math>-Geraniol</b>
35.71	<b><math>\beta</math>-Citronellol</b>
36.55	<b>(Z)-Neral</b>
37.04	<b>(E)-Nerol</b>
37.59	<b>2-Phenylethyl Acetat</b>
37.98	<b>(E)-Neral</b>
38.89	Tridecan
39.70	3-Methyl-6-oxo-2-hexenyl Acetat
40.27	<b>Methyl Geranylat</b>
41.42	<b>Citronellyl Acetat</b>
41.61	<b><math>\alpha</math>-Cubeben</b>
41.86	<b>Neryl Acetat</b>
42.82	<b>Geranyl Acetat</b>
43.13	<b><math>\alpha</math>-Copaen</b>
43.62	<b><math>\beta</math>-Cubeben</b>
44.17	<b>Eugenol Methyl Ester</b>
45.29	<b><math>\beta</math>-Caryophellen</b>
45.78	epi-Bicyclosesquiphellandren
46.06	<b>Dihydro-<math>\beta</math>-ionol</b>

47.56	$\gamma$ -Muurolen	51.23	(+)-Spathulenol
47.88	Pentadecan	52.00	Hexadecan
47.99	<b>Germacren D</b>	54.12	(+)-Carotol
49.36	$\delta$ -Cadinen	54.67	<b><math>\alpha</math>-Cadinol</b>
49.66	<b>Calamenen</b>	54.77	$\tau$ -Cadinol
50.27	<b>(-)- <math>\alpha</math>-Cadinen</b>	55.24	<b>(-)-<math>\tau</math>-Muurolol</b>
50.59	$\alpha$ -Calacoren		

Tab. 12: Auswertung des Chromatogrammes der *Duftwolke*-Rosenblüte

#### 4.2.4.1 Diskussion der Messung an der Rosenblüte *Duftwolke*

Interessant ist die Verbindung 2-Methyl-3-buten-1-ol-Acetat bei einer Retentionszeit von 19.29 min. In der Studie von Antonelli et al. (1997) wurde zum ersten Mal 2-Methyl-3-buten-1-ol unter Rosenduftbestandteilen gefunden, über das Acetat dieser Verbindung wurde in Zusammenhang mit Rosenduftstoffen jedoch noch nicht berichtet.

Citronellal bei der Retentionszeit 31.98 min kommt in verschiedenen Rosensorten vor und besitzt einen zitronenartigen, frischen, grünen Geruch (nach Citronella) [JIROVETZ et al., 2005]. Hexanal, das bei 15.94 min nachweisbar ist, sorgt für eine fettig bis grasig-grüne Note im Rosenduft [JIROVETZ et al., 2005].

$\beta$ -Cubebene, die hier viermal hintereinander aufscheinen und deswegen mit 1 bis 4 durchnummeriert wurden, werden auch von Helsper et al. (2002) in ihrer Studie über die emittierten flüchtigen Verbindungen der Sorte *Rosa hybrida* cv. Honesty erwähnt.

Abb. 22:  
*Duftwolke* Rosenblüte im Volksgarten,  
5/2008 [FEUERSTEIN]



## 5 SCHLUSSBETRACHTUNGEN

Die erzielten Ergebnisse konnten die Hypothese bestätigen, dass an bestimmten Plätzen in Wien der wahrgenommene spezifische Geruch analytisch bestimmbar ist und eine Menge an geruchsaktiven, flüchtigen Substanzen eindeutig ihrer Geruchsquelle – in diesem Fall der Schokolade, dem Lebkuchen oder den Rosen – zugeordnet werden kann.

Auch wenn nicht alle wichtigen Schlüsselduft- bzw. -aromastoffe an Plätzen wie der Parkbank im Volksgarten oder im Innenhof der Mannerfabrik detektierbar sind – somit mit deren Zusammensetzung und Konzentration am Entstehungsort nicht übereinstimmen – bewirkt jedoch das Zusammenspiel der nachgewiesenen Substanzen einen Geruchseindruck, den ein/e "Passant/in" erkennen und als typischen Geruch in Erinnerung behalten kann.

Einige Denkansätze und Aspekte bezüglich verwendeter Methoden und auftretender Schwierigkeiten während der Probenahme, Auftrennung und Auswertung ergaben sich erst im Laufe der vorliegenden Diplomarbeit.

Wie in der Einleitung des vorherigen Kapitels schon erwähnt, ließen sich bei den Messungen mit sechsständiger Dauer an allen Standorten aussagekräftigere Chromatogramme und genauere Ergebnisse als mit Messungen mit zwei- und vierständiger Dauer erreichen. Aus Studien mit ähnlichen Messbedingungen und -methoden – wie z.B. bei jenen von Tonidandel et al. durchgeführten Luftmessungen mit SPME in den italienischen Dolomiten – kann eine ungefähre Mindestdauer bei „Freiluftmessungen“ abgeleitet werden, die bei etwa fünf Stunden liegt [TONIDANDEL et al., 2006]. Da bei der vorliegenden Arbeit aber auch geschlossene Räume untersucht wurden (Schokoladen- und Lebkuchenaromen in den Produktionsstätten von Manner) beziehungsweise im Nahbereich einer „outdoor-Duftquelle“ (Rosenblüte im Volksgarten) gemessen wurde, waren Messungen mit unterschiedlicher Dauer zwecks Ergebnisoptimierung an den unterschiedlichen Standorten nötig. Und dabei erwies sich im Nachhinein eine Dauer von sechs Stunden für die Messungen im Freien und in den Produktionsräumen als optimal. Nur bei der Messung des Rosenduftes der Sorte *Duftwolke*, die direkt vor der Blüte stattfand, reichte die Dauer von einer

Stunde vollkommen aus; es konnten viele aus der Literatur bekannte Duftstoffe bestätigt werden. Die 18-stündige Vialmessung lief über Nacht und sollte einen Vergleich zwischen den Duftstoffen gepflückter und intakter Rosenblütenblätter ermöglichen, was auch gelang.

Als schwierig erwies sich die Auswertung der Chromatogramme der Messungen im Freien, wie z.B. auf der Parkbank im Volksgarten oder im Innenhof des Betriebsgeländes von Manner. In diesen Chromatogrammen liegen die Peaks – zeitlich gesehen – oft sehr eng zusammen, was eine Überlappung der einzelnen Peakflächen oder -spitzen zur Folge hat. Hier wurde die Auswertung mit den verwendeten Datenbanken teilweise durch zu geringe Wahrscheinlichkeiten bzw. Übereinstimmungen mit den Daten aus den Spektrenbibliotheken erschwert. Ein Grund liegt wahrscheinlich bei den Messbedingungen im Freien. In der Luft sind sehr viele unterschiedliche Substanzen in so geringen Konzentrationen enthalten, dass eine Auftrennung und Identifizierung mit der angewandten Methodik nur schwer möglich ist.

SPME mit anschließender GC-MS-Kopplung stellt zwar eine geeignete Methode für die Messung von komplexen Matrixen dar, die Verbindungen werden aber selektiv gesammelt, was eine vollständige Analyse quasi unmöglich macht [OUYANG und PAWLISZYN, 2008].

Interessant wäre weiters eine zusätzliche quantitative Auswertung der identifizierten geruchsaktiven flüchtigen Verbindungen. So könnten beispielsweise die Mengen an detektierten Substanzen aus den Messungen direkt an den Geruchsquellen (z.B. Rosenbeet, Schokolade- und Lebkuchenproduktionsstätten) mit jenen der Standorte, die man als Wiener im 16./17. Bezirk (Außenluft bei Manner) oder BesucherInnen des Volksgartens als „geruchstypische Plätze“ empfindet, verglichen werden.

Da SPME zu den unvollständigen Messmethoden zählt, verlangt die Extraktion nach einer genauen Kalibrierung, wenn sie für eine qualitative Analyse verwendet wird [DEIBLER et al., 2002]. Es wurde bei den Untersuchungen jedoch keine Kalibrierung vorgenommen, daher ist ein quantitativer Vergleich der flüchtigen Verbindungen untereinander nur ansatzweise möglich. Die Methode

bietet aber bei einer Auswertung mit GC-MS Signalhöhen an, die sich proportional zu der freien Konzentration des Zielanalyts verhalten [OUYANG und PAWLISZYN, 2008]: d.h. anhand der Peakhöhe kann in etwa abgeschätzt werden, welche Substanzen in höheren (relativ) Konzentrationen enthalten sind als andere.

Schwierigkeiten zeigten sich weiters bei der SPME-Injektion in den GC-Injektorblock bzw. bei der Trennsäule. Wie im Kapitel „Diskussion der Ergebnisse“ kurz erklärt, scheint in allen erhaltenen Chromatogrammen bei einer Retentionszeit von 12.91 min die Siliciumverbindung Hexamethyltrisiloxan auf, wobei eine Verunreinigung im GC-Inlet durch Absplitterungen der SPME-Faser vermutet wurde.



## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Diplomarbeit ist Teil des WWTF-Projektes "*Tast- und Duft-design: Ressourcen für die Creative Industries in Wien*". Ein Anliegen des Projektes ist die Untersuchung von Gerüchen typisch Wiener Einrichtungen mit Hilfe hochdifferenzierender Mess- und Analysegeräte.

Diese Arbeit konzentriert sich auf zwei Standorte mit als "wienspezifisch" charaktersistbaren Geruchsmustern: Den Wiener Volksgarten (Rosenblüte Mai 2008) und den Betrieb der Manner-AG im 16./17. Wiener Bezirk (Schokolade- und Lebkuchen-Produktion Juni 2008).

Die Messung der Luftzusammensetzung erfolgte mit einem tragbaren Solid-Phase-Microextraction-Feldsampler der Marke SUPELCO (Sigma Aldrich®, Artikelnr. 534831, Faserbeschichtung: Carboxen/Polydimethylsiloxan) im besagten Zeitraum. Aus Gründen des a priori nicht einschätzbaren Messdauer-Optimums wurden an beiden Standorten jeweils Messungen mit zwei, vier und sechs Stunden durchgeführt; ausgenommen von dieser Dreifach-Messung waren die Erfassung der Parameter an der Rosenblüte (Messdauer eine Stunde) sowie der gepflückten Rosenblütenblätter im Vial (Messdauer 18 Stunden). Nach Auswertung der Chromatogramme erwiesen sich die 6-stündigen Messungen als die besten im Sinne der analytischen Aussagekraft. Die Auftrennung der Proben erfolgte per GC-MS-Kopplung (Gerätemarke: Trace GC Ultra der Firma Thermo Electron Corporation) mit dem MS-Gerät (DSQ II der gleichen Firma). Die Auswertung und Identifizierung erfolgte mit den Datenbanken NIST und Wiley im systemeigenen Programm Xcalibur des Geräteherstellers.

Die Probennahme direkt an den Entstehungsorten der zu untersuchenden Gerüche – Rosen- und Schokolade-Lebkuchenaromen - erlauben interessante Korrelationen zwischen der chemischen Analyse der Geruchsquellen und der sensorischen Wahrnehmung von PassantInnen/BesucherInnen des Volksgartens beziehungsweise des Manner-Innenhofes. Jedenfalls konnte die Hypothese, dass die untersuchten Luftproben nachweislich Aroma- und Duftstoffe aus Rosen, Schokolade oder Lebkuchen enthalten, bestätigt werden.

## 7 SUMMARY

This diploma thesis is part of the WWTF project called “*Sense of haptic and olfactory Design: Resources for the Creative Industries in Vienna*”. The main objective of this project is to analyse smells and scents of typical Viennese locations by means of highly sensitive measuring and analysing devices.

The thesis focuses on two locations producing samples of smells and scents associated as typical for Vienna: Roses in full bloom at the “Wiener Volksgarten” in May 2008 and at Manner, a confectionary plant producing chocolates and gingerbread in June 2008.

In order to measure the individual components of the air the portable solid-phase-microextraction field sampler SUPELCO (Sigma Aldrich, article no. 534831, with a layer of fibres of Carboxen/Polydimethylsiloxan) was used during the time specified.

As it was not possible to give a precise estimate of the most efficient measuring period of the air in each location in advance, measurements were carried out in continual blocks of time of two, four and six hours. Not included in this analysis was the determination of the benchmarks of the rose bloom (time of measuring 1 hour) or of the rose pedals in the vial (time of measuring: 18 hrs.)

After evaluating the chromatograms the measurements taking 6 hrs. proved to be the most effective in view of their analytical messages. The separation of the samples was done by GC-MS-link-up (device used: Trace GC Ultra by Thermo Electron Corp.) with the MS device (DSQII by the same makers). Identification was carried out by means of the data banks NIST and Wiley in the system immanent program Xcalibur of the producer.

The samples taken straight on the places of origin of the scents and smells to be analysed – roses and chocolate-and gingerbread aroma – result in a highly interesting correlation between the chemical analysis of the sources of smell and the receptive sensation caused in passers-by and visitors of the Volksgarten respectively the inner court of the Manner plant. The hypothesis that the samples of air analysed contained traces of aroma and scent of roses, chocolate and gingerbread has been proved to be realistic and true.

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

AFOAKWA EO, PATERSON A, FOWLER M, RYAN A. Matrix effects on flavour volatiles release in dark chocolates varying particle size distribution and fat content using GC-mass spectrometry and GC-olfactometry. Food Chemistry, 2009; **113**: 208-215.

ALI BH, BLUNDEN G, TANIRA MO, NEMMAR A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. Food and Chemical Toxicology, 2008; **46**: 409-420.

AMIN I, JINAP S, JAMILAH B: Vicilin-class globulins and their degradation during cocoa fermentation. Food Chemistry, 1997; **59**, No. 1: 1-5.

ANTONELLI A, FABBRI C, GIORGIONI ME, BAZZOCCHI R. Characterization of 24 Old Garden Roses from Their Volatile Compositions. J. Agric. Food Chem. 1997 ; **45**: 4435-4439.

AROLIO M, LOCATELLI M, TRAVAGLIA F, COISSON JD, DEL GROSSO E, MINASSI A, APPENDINO G, MARTELLI A: Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). Food Chemistry 2008; **106**: 967-975.

ASHIHARA H, SANO H, CROZIER A: Review. Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. Phytochemistry, 2008; **69**: 841-856.

AYCI F, AYDINLI M, BOZDEMIR ÖA, TUTAS M. Gas chromatographic investigation of rose concrete, absolute and solid residue. Flavour Fragr. J. 2005; **20**: 481-486.

BOLENZ S, THIESSENHUSEN T, SCHÄPE R. Fast conching for milk chocolate. Eur Food Res Technol, 2003; **218**: 62-67.

BOLLER E und BRAUN P. Technologie der Schokoladeherstellung. Die optimale Aroma-Entwicklung. Zucker- und Süßwarenwirtschaft 2001; **54**: 28-32. Kakao Bühler AG, Uzwil.

- BONVEHÍ JS: Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. Eur Food Res Technol 2005; **221**: 19-29.
- BOUSBIA N, VIAN MA, FERHAT MA, MEKLATI BY, CHEMAT F. A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. Journal of Food Engineering 2009; **90**: 409–413.
- BRUINSMA K, TAREN DL. Review: Chocolate: Food or Drug? J Am Diet Assoc. 1999; **99**: 1249-1256.
- BRUNKE EJ, HAMMERSCHMIDT FJ, SCHMAUS G. Scent of Roses – Recent Results. Flavour Fragr. J. 1992 ; **7**: 195-198.
- CAI L, WU CD. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing Growth Inhibitory Activity Against Oral Pathogens. J. Nat. Prod., 1996 ; **59** (10) : 987-990.
- CAMPIA U, PANZA JA: Flavanol-Rich Cocoa. A Promising New Dietary Intervention to Reduce Cardiovascular Risk in Type 2 Diabetes? J of the Am. College of Cardiology, 2008; Vol. **51**, No. 22: 2150-2152.
- CHERRI-MARTIN M, JULLIEN F, HEIZMANN P, BAUDINO S. Fragrance heritability in Hybrid Tea roses. Scientia Horticulturae 2007; **113**: 177-181.
- CHOO LC, WONG SW, LIEW KY. Essential oil of nutmeg pericarp. J. Sci. Food Agric. 1999; **79**: 1954-1957.
- CHRUBASIK S, PITTLER MH, ROUFOGALIS BD. *Zingiberis rhizoma*: A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. Phytomedicine, 2005; **12**: 684-701.
- COUNCIL FOR RESPONSIBLE NUTRITION. Vitamin and Mineral Recommendations. Historical Comparison of RDIs, RDAs and DRIs, 1968 to Present. [http://www.crnusa.org/about\\_recs4.html](http://www.crnusa.org/about_recs4.html). Zugriff am: 17.02.2009. CNR, Washington.
- COUNET C, CALLEMIEN D, OUWERX C, COLLIN S. Use of Gas Chromatography-Olfactometry to Identify Key Odorant Compounds in Dark Chocolate.

Comparison of Samples before and after Conching. J. Agric. Food Chem. 2002; **50**: 2385-2391.

DEIBLER KD, LAVIN EH, ACREE TE. Solid Phase Microextraction Application in GC/Olfactometry Dilution Analysis. In: Molecular Methods of Plant Analysis, Vol. 21: Analysis of Taste and Aroma (Jackson JF, Linskens HF, Hrsg). Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2002; 239-248.

DEL ROSARIO BRUNETTO M, GUTIÉRREZ L, DELGADO Y, GALLIGNANI M, ZAMBRANO A, GÓMEZ À, RAMOS G, ROMERO C: Determination of Theobromine, Theophylline and caffeine in cocoa samples by a high-performance liquid chromatographic method with on-line sample cleanup in a switching-column system. Food Chemistry 2007; **100**: 459-467.

DIACONU M. Tasten – Riechen – Schmecken. Eine Ästhetik der anästhesierten Sinne. Verlag Königshausen & Neumann GmbH, Würzburg 2005, S. 15-20.

DILLINGER TL, BARRIGA P, ESCÁRCEGA S, JIMENEZ M, LOWE DS, GRIVETTI LE. Food of the Gods: Cure for Humanity? A Cultural History of the Medical and Ritual Use of Chocolate in: Chocolate. Modern Science Investigates an Ancient Medicine. J. Nutr. 2000; **130**: 2057-2072.

DING EL, HUTFLESS SM, DING X, GIROTRA S: Chocolate and Prevention of Cardiovascular Disease: A Systematic Review. Nutrition & Metabolism 2006; **3**: 2.

DIRTL T. Der richtige Wiener Riecher. [dieUniversitaet-online.at](http://dieUniversitaet-online.at), 10. Mai 2007. Zugriff am: 10.12.2008.

DUCKI S, MIRALLES-GARCIA J, ZUMBÉ A, TORNERO A, STOREY DM. Evaluation of solid-phase micro-extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the headspace analysis of volatile compounds in cocoa products. Talanta 2008; **74**: 1166-1174.

DUNPHY PJ. Location and biosynthesis of monoterpenyl fatty acyl esters in rose petals. Phytochemistry 2006; **67**: 1110-1119.

EDRIS AE. Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Phytother. Res.*, 2007; **21**: 308-323.

ELMADFA I, FREISLING H, NOWAK V, HOFSTÄDTER D, et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2008. 1. Auflage, Wien, März 2009: 144.

GONG F, FUNG YS, LIANG YZ. Determination of Volatile Components in Ginger Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry with Resolution Improved by Data Processing Techniques. *J. Agric. Food Chem.*, 2004 ; **52** (21) : 6378-6383.

GÜLCIN I, OKTAY M, KIRECCI E, IRFAN KÜFREVIOĞLU Ö. Screening of anti-oxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 2003; **83**: 371-382.

HAMMERSTONE JF, LAZARUS SA, SCHMITZ HH. Procyanidin Content and Variation in Some Commonly Consumed Foods. In: *Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine*. *J. Nutr.*, 2000; **130**: 2086-2092.

HELSPER J, DAVIES JA, BOUWMEESTER HJ, KROL AF, VAN KAMPEN MH. Circadian rhythmicity in emission of volatile compounds by flowers of *Rosa hybrida* L. cv. Honesty. *Planta* 1998; **207**: 88-95.

HELSPER J, DAVIES JA, VERSTAPPEN FW. Analysis of Rhythmic Emission of Volatile Compounds of Rose Flowers. In: *Molecular Methods of Plant Analysis*, Vol. 21: Analysis of Taste and Aroma (Jackson JF, Linskens HF, Hrsg). Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2002; 199-221.

HOLM CS, ASTON JW: The Effect of the Organic Acids in Cocoa on the Flavour of Chocolate. *J. Sci. Food Agric.*, 1993; **61**: 65-71.

HONGRATANAWORAKIT T. Investigation of the Relaxing Effect of Rose Oil on Humans. *NPC* 2009; **4** (2): 291-296.

IDLE JR. Christmas Gingerbread (Lebkuchen) and Christmas Cheer – Review of the Potential Role of Mood Elevating. Amphetamine-like Compounds Formed in vivo and in furno. *Prague Medical Report*, 2005; **106**, No. 1: 27-38.

- JALIL AM, ISMAIL A: Review – Polyphenols in Cocoa and Cocoa Products: Is There a Link between Antioxidant Properties and Health? *Molecules*, 2008; **13**: 2190-2219.
- JIROVETZ L, BUCHBAUER G, STOYANOVA A, BALINOVA A, GUANGJIUN Z, XIHAN M. Solid phase microextraction/gas chromatographic and olfactory analysis of the scent and fixative properties of the essential oil of *Rosa damascena* L. from China. *Flavour Fragr. J.* 2005; **20**: 7-12.
- JOICHI A, YOMOGIDA K, AWANO K, UEDA Y. Volatile components of tea-scented modern roses and ancient Chinese roses. *Flavour Fragr. J.* 2005; **20**: 152-157.
- KEEN CL, HOLT RR, OTEIZA PI, FRAGA CG, SCHMITZ HH. Cocoa antioxidants and cardiovascular health. *Am J Clin Nutr*, 2005; **81** (suppl): 298-303.
- KLEINERT J: Handbuch der Kakaoverarbeitung und Schokoladeherstellung, 1997. Behr's Verlag GmbH & Co, Hamburg, S. 40-85.
- KÜHSCHELM O. Unternehmer, Firmen, Produkte. In: *Memoria Austriae*. Hrsg. Emil Brix, Verlag für Geschichte u. Politik Wien, 2005, S. 97-129.
- LEE KG, SHIBAMOTO T. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry]. *Food Chemistry*, 2001 ; **74** : 443-448.
- LEE R, BALICK M: Rx: Chocolate. In: *Ethnomedicine*. *Explore* 2005; **1**, No.2: 136-139.
- LOPÉZ P, HUERGA MA, BATLLE R, NERIN C. Use of solid phase micro-extraction in diffusive sampling of the atmosphere generated by different essential oils. *Analytica Chimica Acta* 2006; **559**: 97–104.
- LOW DOG T. A Reason to Season: The Therapeutic Benefits of Spices and Culinary Herbs. *Explore, Diet and Nutrition*, 2006; **2** No.5: 446-449.
- LUNA F, CROUZILLAT D, CIROU L, BUCHELI P: Chemical Composition and Flavor of Ecuadorian Cocoa Liquor. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; **50** (12): 3527-3532.

MAO T, VAN DE WATER J, KEEN CL, SCHMITZ HH, GERSHWIN ME. Cocoa Procyanidins and Human Cytokine Transcription and Secretion in: Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine. J. Nutr., 2000; **130**: 2093-2099.

MISNAWI, JINAP S, JAMILAH B, NAZAMID S. Activation of remaining key enzymes in dried under-fermented cocoa beans and its effect on aroma precursor formation. Food Chemistry, 2002; **78**: 407-417.

MISNAWI, JINAP S, JAMILAH B, NAZAMID S. Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during cocoa liquor roasting. Food Chemistry, 2004; **85**: 73-80.

MOOKHERJEE BD, TRENKLE RW, WILSON RA. The chemistry of flowers and spices: live vs. dead a new dimension in fragrance research. Pure & Appl. Chem. 1990; **62**, No.7: 1357-1364.

MURCIA MA, EGEA I, ROMOJARO F, PARRAS P, JIMÉNEZ AM, MARTÍNEZ-TOMÉ M. Antioxidant Evaluation in Dessert Spices Compared with Common Food Additives. Influence of Irradiation Procedure. J. Agric. Food Chem. 2004; **52** (7): 1872-1881.

MURESAN S, EILLEBRECHT MA, DE RIJK TC, DE JONGE HG, LEGUIJT T, NIJHUIS HH: Aroma profile development of intermediate chocolate products. I. Volatile constituents of block-milk. Food Chemistry 2000; **68**: 167-174.

NGUYEN H, CAMPI EM, JACKSON WR, PATTI AF. Effect of oxidative deterioration on flavour and aroma components of lemon oil. Food Chemistry 2009; **112**: 388–393.

NISSJEN L, VISSCHER C, MAARSE H, WILLEMSSENS L, BOELEN M. Qualitative and Quantitative Data, Cocoa. In: Volatile Compounds in Food. TNO Nutrition and Food Research Institute, 1996. Kapitel 71. Zeist, The Netherlands.

OBERPARLEITER S, ZIEGLEDER G: Amadori-Verbindungen als Aromavorstufen in Kakao. Nahrung, 1997; **41**, Nr. 3: 142-145.

OUYANG G, PAWLISZYN J. A critical review in calibration methods for solid-phase microextraction. Analytica Chimica Acta 2008; **627**: 184-197.



PAATSCH T: Schadstoffinformationen auf: [http://www.enius.de/schadstoffe-/1\\_2\\_3-trimethylbenzol.html](http://www.enius.de/schadstoffe-/1_2_3-trimethylbenzol.html). Zugriff am: 04.12.08, Contrat GmbH, Düsseldorf.

PARKER G, PARKER I, BROTHIE H. Review. Mood state effects of chocolate. *Journal of Affective Disorders*. 2006; **92** : 149-159.

PEREGO P, FABIANO B, CAVICCHIOLI M, DEL BORGHI M. Cocoa Quality and Processing. A Study by Solid-phase Microextraction and Gas Chromatography Analysis of Methylpyrazines. *Food and Bioprocess Technology*, Trans IChemE 2004; **84** (C4): 291-297.

PICHERSKY E, NOEL JP, DUDAREVA N. Review – Biosynthesis of Plant Volatiles: Nature's Diversity and Ingenuity. *Science* 2006; **311**: 808-811.

PINI GF, DE BRITO ES, GARCIA NH, VALENTE AL, AUGUSTO F: A Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) method for the chromatographic determination of alkylpyrazin in cocoa samples. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2004; **15**, No. 2.: 1-13.

REGA B, GUERARD A, DELARUE J, MAIRE M, GIAMPAOLI P. On-line dynamic HS-SPME for monitoring endogenous aroma compounds released during the baking of a model cake. *Food Chemistry* 2009; **112**: 9-12.

REIN D, LOTITO S, HOLT RR, KEEN CL, SCHMITZ HH, FRAGA CG. Epicatechin in Human Plasma: In Vivo Determination and Effect of Chocolate Consumption on Plasma Oxidation Status. In: *Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine*. *J. Nutr.*, 2000; **130**: 2109-2114.

REIN D, PAGLIERONI TG, PEARSON DA, WUN T, SCHMITZ HH, GOSSELIN R, KEEN CL. Cocoa and Wine Polyphenols Modulate Platelet Activation and Function in: *Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine*. *J. Nutr.*, 2000; **130**: 2120-2126.

RITTER G. Weihnachtsduft – verführerisch mit Lebkuchen und Gewürzen. Gewürze wirken positiv auf Körper und Geist. *Moderne Ernährung heute*, 2003; **4**: 1-8.

SCALBERT A, WILLIAMSON G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. In: Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine. J. Nutr. 2000; **130**: 2073-2085.

SCHNERMANN P, SCHIEBERLE P: Evaluation of Key Odorants in Milk Chocolate and Cocoa Mass by Aroma Extract Dilution Analyses. J. Agric. Food Chem., 1997; **45**: 867-872.

SERRA BONVEHÍ J. Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. Eur Food Res Technol 2005; **221**: S. 19-29, Springer Verlag.

SERRA BONVEHÍ J, VENTURA COLL F: Evaluation of bitterness and astringency of polyphenolic compounds in cocoa powder. Food Chemistry 1997; **60**, No.3: 365-370.

SHUKLA Y, SINGH M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. Food and Chemical Toxicology 2007; **45** : 683-690.

SIDES A, ROBARDS K, HELLIWELL S. Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. Trends in analytical chemistry 2000; **19**: 322-329.

SIEDENTOPP U. Heilpflanze Ingwer – wirksam als Arznei, Gewürz und Tee. Dt. Ztschr. F. Akup., 2008; **51**: 72-75.

SINGH G, MAURYA S, DE LAMPASONA MP, CATALAN CA. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. Food and Chemical Toxicology, 2007 ; **45** : 1650-1661.

STEINBERG FM, BEARDEN MM, KEEN CL: Review - Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. J Am Diet Assoc. 2003; **103**: 215-223.

STOILOVA I, KRASTANOV A, STOYANOVA A, DENEV P, GARGOVA S. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). Food Chemistry, 2007 ; **102**: 764-770.

SUHAJ, M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. J. of Food Comp. and Analysis, 2006; **19**: 531-537.

SUPELCO: Solid Phase Microextraction of Volatile Compounds. Application Note 11 1998. Sigma Aldrich Co. [http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/Application\\_Notes/4558.Par.0001.File.tmp/4558.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/Application_Notes/4558.Par.0001.File.tmp/4558.pdf). Zugriff am: 10.12.2008.

THOLL D, BOLAND W, HANSEL A, LORETO F, RÖSE US, SCHNITZLER JP. Practical approaches to plant volatile analysis. Techniques for molecular analysis. The Plant Journal 2006; **45**: 540-560.

TONIDANDEL L, SARTORI E, TRALDI P. SPME in the Detection of BioVOCs: Monitoring the Paneveggio Natural Park. SUPELCO Report 2006. [http://www.-sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/General\\_Information/paneveggio-park.Par.0001.File.tmp/paneveggio-park.pdf](http://www.-sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/General_Information/paneveggio-park.Par.0001.File.tmp/paneveggio-park.pdf), Zugriff am: 13.12.2008.

UEYAMA Y, HASHIMOTO S. The Essential Oil from the Flowers of *Rosa rugosa* Thunb. Var. plena Regel. Flavour Fragr. J. 1990; **5**: 219-222.

VAN BOEKEL MAJS. Research review paper. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. Biotechnology Advances, 2006; **24**: 230-233.

VAN SCHIE C, HARING MA, SCHUURINK RC. Regulation of terpenoid and benzenoid production in flowers. Current Opinion in Plant Biology 2006; **9**: 203-208.

WANG JF, SCHRAMM DD, HOLT RR, ENSUNSA JL, FRAGA CG, SCHMITZ HH, KEEN CL. A Dose-Response Effect from Chocolate Consumption on Plasma Epicatechin and Oxidative Damage. In: Modern Science Investigates an Ancient Medicine. J. Nutr., 2000; **130**: 2115-2119.

WENQIANG G, SHUFEN L, RUIXIANG Y, SHAOKUN T, CAN Q. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. Food Chemistry, 2007; **101**: 1558-1564.

WESTERTERP-PLANTENGA M, DIEPVENS K, JOOSEN A M, BÉRUBÉ-PARENT S, TREMBLAY A. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. *Physiology & Behaviour*, 2006; **89**: 85-91.

WORLD COCOA FOUNDATION. <http://www.worldcocoafoundation.org/info-center/-heritage.asp>. Zugriff 16.02.2009. World Cocoa Foundation, Washington.

YU Y, HUANGA T, YANG B, LIU X, DUANA G. Development of gas chromatography–mass spectrometry with microwave distillation and simultaneous solid-phase microextraction for rapid determination of volatile constituents in ginger. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007; **43**: 24–31.

### **SONSTIGE QUELLEN :**

CAOBISCO: Ranking of Consumption – Chocolate Confectionery, 2006 [http://www.caobisco.com/doc\\_uploads/Charts/consumption\\_choco.pdf](http://www.caobisco.com/doc_uploads/Charts/consumption_choco.pdf), Zugriff am 01.02.2009.

SUPELCO. Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions. Bulletin 923. 1998, Sigma-Aldrich Co. <http://www.sigmaaldrich.com/etc-/medialib/docs/Supelco/Bulletin/4547.Par.0001.File.tmp/4547.pdf>. Zugriff am: 04.04.2009.

European Bioinformatics Institute EBI: chEBI-Database: <http://www.ebi.ac.uk/-chebi/searchId.do?chebId=CHEBI:49000>. Zugriff am 10.04.2009.

## 9 CURRICULUM VITAE

Elisabeth Feuerstein  
Birkenweg 8  
A – 6912 Hörbranz



Geburtsdatum / -ort: 19.12.1984 / Bregenz

### Ausbildung:

---

Seit Oktober 2005: Bakkalaureat der Agrarwissenschaften an der Universität für Bodenkultur

Seit Oktober 2003: Diplomstudium der Ernährungswissenschaften an der Universität Wien

2001 – 2003: französisches Sprachzertifikat DELF, vier Niveaustufen A1 bis A4

1995 - 2003: Neusprachlicher Zweig am Bundesgymnasium Blumenstraße, Bregenz

### Praxis:

---

Seit Dezember 2008: Abteilungswechsel im Rahmen der geringfügigen Beschäftigung: von der Flavourabteilung in die Beverageabteilung des Aromenherstellers Symrise, Wien

Juli/August 2008: fünfwöchiges Praktikum im Labor für Qualitätsprüfung der Hermann Pfanner Getränke Ges.m.b.H, Vorarlberg

Juli 2007: einmonatiges Ferialpraktikum in der Flavour- und Beverageabteilung des Aromenherstellers Symrise, Wien

Okt. 06 – Dez. 08: Geringfügig angestellte Labormitarbeiterin in der Flavourabteilung des Aromenherstellers Symrise, Wien

Juli u. August 2006: zweimonatiges Praktikum im Agrochemischen Labor am Land- und Forstwirtschaftlichen Versuchszentrum Laimburg der Provinz Bozen, Südtirol

Juli 2004: einmonatiges Ferialpraktikum beim Land Vorarlberg am Umweltinstitut in der Abteilung Trinkwasseranalytik und Bäderkontrolle

August 2003: Milchpilz Bregenz, Bedienung

August 2002: Milchpilz Bregenz, Bedienung

Juli 2001: Seekiosk Bregenz, Bedienung und Verkauf

**Sprachen:**

---

Deutsch: Muttersprache

Französisch: Fließend

Englisch: Gut

Italienisch: Grundkenntnisse

**Computerkenntnisse:**

---

Microsoft Vista, Word, Excel, Power Point